

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1934-1935. — N° 55

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE CHIMIE BIOLOGIQUE ET MÉDICALE
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON
(PROFESSEUR GABRIEL FLORENCE)

CALCIFICATION ET CALCÉMIE

THÈSE

Présentée

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 18 Décembre 1934.

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

André CHARLIN

ANCIEN ÉLÈVE A L'ÉCOLE DU SERVICE DE SANTÉ MILITAIRE
ANCIEN INTERNE SUPPLÉANT DES HÔPITAUX DE LYON
DIPLOMÉ D'HYGIÈNE ET DE MICROBIOLOGIE

Né à Morez-du-Jura, le 20 Novembre 1910

IMPRIMERIE DE TRÉVOUX
G. PATISSIER

1934

CALCIFICATION ET CALCÉMIE

*(Travail du Laboratoire de Chimie Biologique et Médicale
de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon)*

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1934-1935. — N° 55

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE CHIMIE BIOLOGIQUE ET MÉDICALE
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON
(PROFESSEUR GABRIEL FLORENCE)

CALCIFICATION ET CALCÉMIE

THÈSE

Présentée

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 18 Décembre 1934.

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

André CHARLIN

ANCIEN ÉLÈVE A L'ÉCOLE DU SERVICE DE SANTÉ MILITAIRE

ANCIEN INTERNE SUPPLÉANT DES HÔPITAUX DE LYON

DIPLÔMÉ D'HYGIÈNE ET DE MICROBIOLOGIE

Né à Morez-du-Jura, le 20 Novembre 1910

IMPRIMERIE DE TRÉVOUX

G. PATISSIER

1934

PERSONNEL DE LA FACULTE

Doyen honoraire ... M. L. HUGOUNENQ
Doyen ... M. J. LEPINE
Assesseur ... M. A. MOREL

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. ROQUE, LANNOIS, HUGOUNENQ, BARRAL, ROLLET, PIC, CONDAMIN

PROFESSEURS

Cliniques médicales	MM. PAVIOT
Cliniques chirurgicales	SAVY
Clinique obstétricale et Accouchements	LIXIER
Clinique ophtalmologique	BERARD
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	VORON
Clinique neurologique et psychiatrique	BONNET
Clinique des maladies des enfants	NICOLAS
Clinique des maladies des femmes	LEPINE (J.)
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	MOURQUAND
Clinique des maladies des voies urinaires	VILLARD
Clinique chirurgicale, infantile et orthopédie	COLLET
Clinique et prophylaxie de la tuberculose	GAYET
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie	NOVE-JOSSERAND
Chimie biologique et médicale	COURMONT
Chimie organique et Toxicologie	CLUZET
Matière médicale et Botanique	FLORENCE
Parasitologie et Histoire naturelle médicale	MOREL
Anatomie	MANCEAU
Histologie	GUIART
Physiologie	LATARJET
Pathologie interne	POLICARD
Pathologie générale et thérapeutique	HERMANN
Anatomie pathologique	FROMENT
Chirurgie opératoire	CADE
Médecine expérimentale et comparée et bactériologie ..	FAVRE
Médecine légale	PATEL
Hygiène	ARLOING (F.)
Pharmacie et Pharmacologie	ETIENNE MARTIN
Hydrologie thérapeutique et climatologie	ROCHAIX
	LEULIER
	PIERY

PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Chargé d'un cours d'Anatomie médico-chirurgicale MM. THEVENOT (Léon)
Chargé d'un cours d'Embryologie NOEL

CHARGES DE COURS COMPLEMENTAIRES

Chirurgie expérimentale MM. TAVERNIER
Stomatologie PONT

AGRÉGÉS

MM.	MM.	MM.	MM.
DUMAS	WERTHEIMER	EPARVIER	CREYSSSEL
DUFOUT	GATE	GUILLEMINET	DE ROUGEMONT
DEVIC	DECHAUME	MORENAS	PAUPERT-RAVAULT
GABRIELLE	BERNHEIM	REBATTU	PIGEAUD
MARTIN (Joseph)	POLLOSSON	REVOL	PONTHUS
ROCHET (Ph.)	CHAMBRON	ENSELME	MORIN (Chargé de cours)
	CIBERT	SEDALLIAN	

Examineurs de la Thèse :

M. BÉRARD, *Président*.

MM. FLORENCE, BERNHEIM, ENSELME, *Assesseurs*.

La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.



A LA MÉMOIRE DE MA MÈRE

A MON PÈRE

LE DOCTEUR PAUL CHARLIN

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR, CROIX DE GUERRE

A TOUS CEUX QUI ME SONT CHERS

A MES AMIS, A MES CAMARADES

A MES JUGES

A MES MAITRES

A MES CHEFS

AVANT-PROPOS

Avant de quitter Lyon, ses Hôpitaux, sa Faculté, il nous reste un devoir à remplir : celui de remercier tous les Maîtres qui nous ont appris à aimer la médecine, tous ceux qui chaque jour nous ont fait profiter de leur savoir et de leur expérience ; nous avons trouvé dans les milieux hospitaliers Lyonnais cet accueil plein de bienveillance qui ne rebute pas le jeune et lui facilite la tâche.

Que M. le Professeur Léon Bérard veuille trouver ici le bien faible hommage de notre profond respect et de notre vive admiration. Il a accepté de présider notre thèse; nous ne saurions trop exprimer combien nous sommes heureux et fier de cette nouvelle preuve de bienveillance à notre égard. Par deux fois, nous avons été son externé et aujourd'hui c'est avec regret que nous pensons aux semestres si agréables pendant lesquels au milieu d'une activité féconde il a si fortement contribué à notre formation. Mais nous avons aussi à lui adresser des remerciements d'un autre ordre, du plus

profond de notre cœur. Nous songeons à ces années déjà lointaines où tout enfant nous allions voir notre père grièvement blessé sur le front et qu'il avait recueilli dans sa clinique. Il s'en est occupé avec tant de bonté que nous avons contracté une dette de reconnaissance que les mots ne sauront jamais suffisamment exprimer.

M. le Professeur Gabriel Florence a bien voulu, il y a trois ans, nous accepter dans son laboratoire de chimie médicale où son enseignement si clair et si précis nous avait attiré. Il nous a toujours manifesté la plus grande bienveillance ; nous l'en remercions respectueusement et le prions de bien vouloir accepter l'hommage de toute notre gratitude.

M. le Professeur agrégé Bernheim, Médecin des Hôpitaux, a bien voulu accepter de faire partie de notre jury, nous l'en remercions très vivement. Nous l'avons rencontré dans les services hospitaliers ; et nous regrettons aujourd'hui de ne pas pouvoir à nouveau profiter de son enseignement au lit du malade. Nous le prions de croire à tout notre dévouement.

Nous ne saurions trop remercier M. le Professeur agrégé Enselme. Pendant trois ans il s'est intéressé à nous avec cette indulgence qui attire à lui les élèves ; sa vaste culture, l'étendue de ses vues scientifiques, le charme, l'intimité qu'il sait faire régner autour de lui, seront pour nous un souvenir inépuisable.

Nos remerciements s'adressent également à tous les Maîtres que nous avons connus dans les Services hospitaliers.

M. le Professeur Favre a guidé nos premiers pas dans la médecine. C'est un souvenir ineffaçable que nous gardons de sa haute personnalité, du Service qu'il savait rendre si accueillant par la gaieté et l'esprit qu'il y faisait continuellement régner. Qu'il trouve ici l'hommage de notre admiration et de notre dévouement.

MM. les Professeurs Rollet, P. Bonnet, Gayet, Lépine, Mouriquand, dont nous avons eu l'honneur d'être l'externe trouveront ici l'hommage de notre plus profonde reconnaissance.

M. le Professeur Courmont, M. le Docteur H. Gardère, Médecin des Hôpitaux, dont nous avons eu l'honneur d'être l'interne, sont aussi de ces Maîtres que l'on n'oublie pas. Nous tenons à les assurer de notre plus profond attachement.

Nous tenons à remercier également MM. les Professeurs agrégés Creyssel et Cibert ; MM. les Docteurs Paufigue, J. Rollet, Peycelon, Denis, Thevenon, Mlle Schoën, Mlle Weill, le Docteur Moulinie, chefs et anciens chefs de clinique qui, dans les différents Services que nous avons fréquentés, nous ont témoigné la plus grande bienveillance et ont contribué à notre culture médicale.

Notre souvenir va aussi à nos conférenciers d'externat et d'internat : MM. les Docteurs Arnaud, de Mourgues, et F. Cuilleret.

Nos Maîtres de l'Ecole du Service de Santé et de l'Hôpital militaire Desgenettes ont contribué pour une large part à notre culture médicale. Au terme de nos études, nous nous souvenons avec reconnaissance des leçons de bactériologie de M. le Médecin Commandant Meersman, Professeur agrégé du Val-de-Grâce, des stages cliniques dans les services de MM. les Médecins Commandant Guillermin et Codvelle, Professeurs au Val-de-Grâce, de MM. les Médecins Commandants Mertz et Pommé, Professeurs agrégés du Val-de-Grâce. Nous aurions aimé leur témoigner notre plus profonde admiration.

MM. les Professeurs Leulier et Manceau ont dirigé notre préparation au concours d'entrée de l'Ecole du Service de Santé Militaire. Nous sommes heureux de pouvoir leur témoigner toute notre gratitude. Nous les prions d'être assurés de notre vive reconnaissance.

Nous regrettons qu'aujourd'hui M. le Médecin Commandant Liégois soit si éloigné de nous ; nous aimerions lui dire tout le bénéfice que nous avons tiré de cet enseignement séméiologique qu'il nous donna au début de nos études, et nous tenons à l'assurer de tout notre dévouement.

Ce travail inspiré par M. le Docteur Enselme, Professeur agrégé de Chimie biologique et médicale à la Faculté, a été exécuté au laboratoire de Chimie biologique de M. le Professeur Florence, et au laboratoire de Pathologie Externe de M. le Professeur Leriche.

Nous avons eu pour but d'étudier la calcification osseuse et ses modifications sous l'influence des divers éléments physiologiques, puis de rechercher la traduction sanguine des troubles produits.

Enfin, reprenant un certain nombre d'observations cliniques déjà publiées, des observations provenant des différents Services hospitaliers Lyonnais, en particulier de la Clinique Chirurgicale de M. le Professeur Bérard et du Service de M. le Professeur Leriche, nous avons essayé d'appliquer les données de l'expérience à la clinique et d'apporter un élément séméiologique et biochimique à la fois, utile dans le diagnostic des différentes dystrophies osseuses.

Cet ouvrage étant une thèse de médecine, nous avons pensé qu'il était préférable de ne pas insister trop longuement sur les différents dosages et techniques utilisés. C'est pourquoi nous ne ferons que les signaler à la fin de notre thèse. D'autre part, pour éviter aux cliniciens de pénétrer trop longuement dans les discussions purement chimiques que nous rapportons, nous avons pensé qu'il serait utile de faire un court résumé au début de chaque chapitre. Dans chacun de ces résumés, nous avons volontairement employé le moins de termes techniques possibles.

Il ne s'agit là que d'un travail encore très incomplet qui sera simplement le premier d'une série de travaux entrepris sous la direction de M. le Professeur agrégé Enselme. Il nous a entièrement guidé dans l'élaboration de notre travail, nous a suivi pas à pas ; c'est son œuvre plus que la nôtre. M. le Professeur Florence a eu l'obligeance de s'occuper lui-même des nombreux pH que nous publions, il nous a interprété les courbes de pouvoir tampon et de neutralisation, enfin nous a guidé dans la partie de cette étude qui concerne les substances collagènes.

M. le Professeur René Leriche nous a ouvert les portes de son laboratoire. Nous le remercions de sa bienveillance et lui adressons nos respectueux hommages.

Dans son laboratoire, M. Friehe, chef de laboratoire, interne des Hôpitaux, nous a permis de pratiquer un grand nombre d'expériences physiologiques. Nous le prions de croire à toute notre reconnaissance.

Nous remercierons aussi nos amis du laboratoire de chimie biologique, MM. Pozzi, Gardon, Rodamel, qui nous sont venus en aide pour tirer nos spectres d'absorption ; nos camarades militaires et civils, Mlle S. Delaye, MM. Giraud, Velluz, Courtade, Lasnier, qui ont bien voulu nous traduire les nombreux textes étrangers que nous avons compulsés.

INTRODUCTION

Parmi tous les minéraux, le calcium est celui qui, de par sa quantité, de par son rôle dans l'organisme, tient la première place.

Il constitue la matière minérale de notre appareil de soutien : le squelette qu'il rend rigide ; il s'y trouve à l'état insoluble. Volkmann a mesuré le poids des cendres du squelette d'un individu pesant 62 kg. 500. Ce poids s'élevait à 2 kg. 247 ; elles contenaient 880 gr. de calcium, c'est-à-dire les 99 % du calcium de l'organisme entier.

En dehors du système osseux, les tissus ne contiennent environ que 8 gr. 5 de calcium. Il s'y trouve à l'état soluble ; il s'agit soit de calcium ionisé, soit de calcium colloïdal intimement lié aux protéines (Pauli et Samec).

On relève les teneurs moyennes suivantes pour quelques tissus :

Sérum ou plasma sanguin	0,090
Muscles	0,063
Foie	0,069
Thyroïde	0,330
Rein	0,189

Pour 1.000 de substance.

Ces chiffres n'ont qu'une valeur très restreinte, mais ils montrent la pauvreté relative des tissus mous par rapport au squelette. Cependant, ce calcium des tissus si peu important qu'il soit quant à son taux, n'en a pas moins un rôle biologique de premier ordre.

Il entretient la contractilité des muscles striés et principalement du myocarde (Ringer-Starling). Il agit sur la tonicité des fibres lisses et l'ionisation calcique du sang, facteur du tonus vasculaire et du tonus cardiaque, joue un rôle très important dans la régulation de la circulation sanguine.

Il est aussi le régulateur de l'excitabilité et de la conductibilité nerveuse et musculaire. Pour Zondek, toute action sympathique est analogue à une action calcique, toute action parasympathique à une action potassique.

Il diminue la perméabilité cellulaire (Chambers). Il excite la sécrétion rénale. Il est aussi un facteur nécessaire à la coagulation du sang et du lait.

Dans toutes ces fonctions, l'ion calcium joue comme antagoniste de l'ion potassium et de l'ion sodium ; son action est synergique de celle de l'ion Mg. Ce qui pourrait s'exprimer par la formule de Loeb :

$$\frac{\text{Na} + \text{K}}{\text{Ca} + \text{Mg}}$$

C'est vers le deuxième mois de la vie intra-utérine, que le calcium apparaît comme un constituant minéral fondamental de l'être humain ; jusqu'à la naissance, puis, de la naissance à la puberté, son faūx ne va cesser

de croître très rapidement ; le calcium se dépose dans les os. A partir de l'âge adulte, le besoin en Ca est minime, cependant il existe une ration quotidienne calcique d'équilibre au-dessous de laquelle l'organisme s'appauvrit en chaux ; cela en raison de l'élimination calcique, perte inévitable, liée au métabolisme général comme il existe des pertes inévitables en carbone ou en phosphore. Ce minimum serait de 0 gr. 88 de Ca par jour selon Reval, de 0 gr. 98 selon Manoussakis. Pour Brull, la détermination exacte du minimum de Ca n'a pas encore été obtenue.

Le calcium nous est fourni par l'alimentation et est absorbé par le tube digestif, soit sous forme de sels solubles grâce à l'acidité du contenu intestinal, soit sous formes organiques très facilement assimilables. Les acides gras provenant des graisses saponifiées forment des savons calcaires qui seraient insolubles si les sels biliaires ne formaient pas avec ces savons calcaires des complexes diffusibles. D'autre part l'absorption calcique est facilitée par la vitamine D.

Entre le puissant réservoir calcique que constituent les os, entre le calcium des tissus, le calcium ingéré et le Ca excrété, le système circulatoire va servir de vecteur. Il apporte aux tissus le Ca de l'alimentation ; aussi toute ration supérieure en Ca à la ration d'équilibre est-elle suivie d'un dépôt de Ca, principalement dans les os, le taux du calcium dans le sang restant toujours constant.

Nous nous proposons d'étudier le mécanisme de ce dépôt calcaire dans les os ; puis d'établir la traduction au niveau du sang des conditions dans lesquelles ce dépôt

peut s'effectuer. Les régulateurs de la calcification et de la calcémie retiendront spécialement notre attention ; ce sont avant tout les hormones et les vitamines. Ayant fixé ces divers points, nous pourrions alors envisager les cas pathologiques ; nous chercherons si, d'après les données de la chimie physiologique, il est possible d'exprimer chimiquement au niveau du sang, si un os doit se calcifier ou se décalcifier. Nous envisagerons les moyens de provoquer la calcification de l'os atteint et la thérapeutique des dystrophies calciques osseuses.

Ce travail comprendra le plan suivant :

1^{er} CHAPITRE : Etude de la calcification.

A) Etude de la composition chimique de l'os.

1. L'eau.

2. La substance organique.

L'osséine, le collagène : caractères biologiques, chimiques.

Formule, préparation, spectre.

L'osséo-mucoïde.

3. Les sels minéraux.

a) Les techniques et leurs critiques.

b) La constitution ionique de l'os.

c) la nature des corps précipités.

B) Les modifications de la composition chimique de l'os avec le vieillissement.

C) Les facteurs de la calcification : le facteur ionique, le facteur protéidique, le facteur diastasique : la phosphatase de Robison.

2° CHAPITRE : Etude de la calcémie.

A) Généralités.

B) Le calcium globulaire.

C) Le calcium sérique ou plasmatique.

1. Les différentes formes de calcium sérique :

Le calcium non diffusible :

le calcium lié aux protéines.

le calcium colloïdal.

Le calcium diffusible :

le complexe adsorbable, filtrable, non ionisé.

le calcium ionisé.

2. Les facteurs de solubilisation du calcium dans le sérum :

3. Les facteurs de la calcémie normale : ingesta, excréta, apports directs, facteurs accessoires.

3° CHAPITRE : Les régulateurs de la calcification et de la calcémie normale.

A) Les facteurs biologiques généraux.

1. Les hormones.

La parathormone : hypo- et hyperparathyroïdisme.

Le corps thyroïde, le thymus, les ovaires.

Hypophyse surrénale, etc...

2. Les vitamines : la vitamine D.

Rachitisme et calcémie, rachitisme et calcification.

Hypervitaminose D et calcémie, hypervitaminose D et calcification.

Vitamine D et parathormone.

4° CHAPITRE : Calcification et calcémie.

A) Généralités.

B) Traduction sanguine du trouble de l'un des facteurs de la calcification.

1. Déséquilibre ionique.

2. Modifications de la substance protéique.

3. Phosphatase osseuse et phosphatasémie.

5° CHAPITRE : Dystrophies calciques.

A) Généralités.

B) Les éléments biochimiques pouvant servir d'élément séméiologique de discrimination.

1. Valeur de la calcémie.

2. Le rapport Ca/P.

3. Le p (produit ionique).

C) Observations.

D) Conclusions.

6° CHAPITRE : Techniques.

CHAPITRE PREMIER

La Calcification

Nous pouvons résumer notre opinion sur la calcification par l'hypothèse suivante qui s'efforce de concilier tous les résultats expérimentaux précédemment relatés :

1° La calcification est un phénomène de précipitation in vivo de phosphate de chaux. Chacun des ions qui se précipitent : les ions phosphates et les ions calcium, joue un rôle dans cette précipitation.

Toute augmentation de l'un de ces ions, l'autre restant constant, augmente la calcification.

2° Les ions calcium sont localement augmentés par la présence du support organique de l'os : l'osséine. L'osséine fixe du calcium par combinaison, mais cette combinaison est fragile et instable, toujours prête à se rompre en face des ions phosphates. L'osséine adsorbe à la surface de ses micelles des ions calcium qui sont sur ces

surfaces condensés et cependant actifs, prêts à la précipitation.

Toute altération du support, de l'osséine, diminuera cette condensation et par suite ralentira ou arrêtera la calcification.

3° Les ions phosphates sont augmentés par suite de la présence au niveau de l'os en formation d'agents diastasiques puissants : les phosphatases. Ces diastases hydrolysent certaines formes organiques du phosphore en libérant les ions phosphates.

Tous ces facteurs concourent à la calcification normale.

Chacun d'eux peut être perturbé.

Il importe de fixer dans chaque affection osseuse quel est le facteur atteint.

Nous disposons pour étudier ces facteurs des moyens suivants :

1° La recherche du p (produit ionique). — La concentration des ions (phosphate et calcium) est mesurée par le « produit ionique », donnée physicochimique dont le calcul dans un milieu expérimental est facile si l'on connaît : la teneur en ions phosphate, la teneur en ions calcium, le pH du milieu.

Conventionnellement, afin d'obtenir des chiffres plus simples, plus faciles à manier, on donne rarement le produit ionique, mais, le plus souvent, l'inverse de son logarithme : le p (produit ionique). Tout facteur qui augmente le produit ionique abaisse son inverse le p (produit ionique) et provoque la calcification.

Tout facteur qui abaisse le produit ionique augmente son inverse le p (produit ionique) et provoque un ralentissement de la calcification, ou un arrêt, ou même, selon son intensité, une décalcification.

2° L'étude du support protéique. — Le support protéique peut être étudié au niveau de l'os :

a) Par des dosages de la substance organique de l'os. Plus il y a de substance fixatrice, plus grande est la fixation.

b) Par une étude des altérations qu'a pu subir la substance fixatrice. Malheureusement, pour l'étudier chimiquement, nous sommes obligés de la dissoudre. Le dissolvant que nous possédons : l'acide formique anhydre, est très sélectif et n'entraîne que la portion restée saine de l'osséine. Les études que nous avons faites sur la partie solubilisée nous ont toujours montré un produit à peu de chose près, semblable à lui-même. Ce dernier moyen d'investigation est donc resté jusqu'à présent sans utilité pratique.

3° L'étude des phosphatases. — Les phosphatases sont facilement décelées au niveau de l'os. Mais leur dosage n'est pas au point.

Il reste donc deux moyens d'étude des phénomènes de la calcification :

La recherche du p (produit ionique) du milieu qui se calcifie.

Le dosage de la portion organique de l'os.

Ce sont eux que nous nous efforcerons d'utiliser.

A la suite de modifications chimiques de leur portion organique, un grand nombre de tissus deviennent fixateurs de sels calciques. Tels sont les dépôts métastatiques du syndrome de Thibierge-Weissenbach, (du syndrome de Raynaud), de certaines polyarthrites ankyloisantes, de la maladie de Paget, de la maladie de Recklinghausen, etc. Dans ce cas, l'examen histologique ne montre pas, en général, d'organisation bien définie.

Normalement, en certains points de l'organisme de semblables dépôts se réalisent : ils constituent le système osseux. Ils présentent dans ce cas une organisation histologique bien définie qui montre des lamelles osseuses orientées autour d'un canal : le canal de Havers. Le plus souvent d'ailleurs, cette orientation s'explique par le jeu des forces auxquelles est soumis l'os.

Dans ce cas, l'examen histologique permet de déceler certaines cellules vivantes dans le tissu osseux : les ostéoblastes. Elles jouent selon les uns (Dubreuil, de Bordeaux), un rôle capital dans le processus de la calcification, selon les autres (Leriche et Policard) un rôle de second ordre.

Placés uniquement sur le plan chimique et physico-chimique, nous ne discuterons pas ces hypothèses. Nous n'en avons pas les moyens, leur étude relevant des disciplines histologiques. Nous n'en avons pas la nécessité : l'hypothèse de Leriche et Policard s'adapte parfaitement à notre travail puisqu'elle nous permet de négliger toutes les actions qui ne relèvent pas de la physico-chimie ; l'hypothèse de Dubreuil qui confère à l'ostéo-

blaste un rôle actif ne nous gêne pas beaucoup plus. L'ostéoblaste n'agit sans doute que par l'intermédiaire de certains agents tels les ferments que nous étudions aussi. C'est pourquoi nous admettons avec Leriche et Policard que l'ossification est un cas particulier d'un phénomène très général : la calcification.

Notre exposé comprendra trois parties :

- 1° L'étude de la composition chimique de l'os.
- 2° L'étude des variations de constitutions de l'os avec le vieillissement.
- 3° L'étude de la calcification.

I. — ETUDE DE LA CONSTITUTION CHIMIQUE DE L'OS

En dépit de son aspect un peu théorique le problème de la constitution chimique de l'os constitue une question d'une importance capitale. La connaissance exacte de la constitution de l'os est indispensable à la compréhension du mécanisme de la calcification. Les résultats, assez variables selon les auteurs, recueillis jusqu'à présent, nous obligent, préalablement à toute étude, à fixer les points suivants :

- 1° Il convient de ne comparer entre eux que des os semblables.

Nous relevons dans Hugounenq le tableau suivant :

	<i>Subst. organique</i>	<i>Subst. minérale</i>
Fémur	15,99	38,18
Tibia	19,22	45,2
Humérus	16,9	35,11
Omoplate	26,07	39,33
Sacrum	30,65	28,98
Corps de vertèbres lombaires	18,33	29,6
Atlas	32,79	56,26

qui montre bien les énormes variations qui peuvent se faire d'un os à l'autre.

2° Dans deux os semblables, il convient de ne comparer entre eux que des tissus de même nature :

Voici un exemple pris dans Hugounenq :

Etude du fémur d'une petite fille de quatre ans :

	TISSU COMPACT	TISSU SPONGIEUX	
		<i>Epiphyse</i>	<i>Diaphyse</i>
Eau	25,54	26,84	41,67
Lipides	2,29	36,75	25,72
Cendres	47,15	22,52	27,92

3° Seuls peuvent être comparés entre eux les os d'animaux de la même espèce.

Voici un tableau établi à la fois avec des données puisées dans Hugounenq et dans notre expérience personnelle :

Etude de la diaphyse fémorale :

	<i>Eau</i>	<i>Subst. organ.</i>	<i>Cendres</i>
d'un enfant	25,54	37,31	47,15
d'un lapin adulte....	21,2	24,9	53,9

4° Enfin, lorsque l'étude de l'os est faite en vue de fixer l'action parfois légère d'un des facteurs de l'ostéogénèse, nous pensons qu'il est prudent de ne comparer entre eux que des sujets frères d'une même portée, pesant sensiblement le même poids, du même sexe, nourris en commun et sacrifiés le même jour. Des circonstances matérielles nous obligeront parfois à nous écarter de cette règle, nous le signalerons en faisant les réserves nécessaires.

L'os se compose de trois constituants principaux :

- l'eau,
- les substances organiques : lipiques et protidiques,
- les sels minéraux.

Nous allons les examiner successivement :

1°) L'eau.

Il semble qu'il soit très facile de doser l'eau contenue dans un os. En fait, cet acte est toujours un peu conventionnel. C'est la différence de poids qui est mesurée entre l'os frais et l'os sec. Il faut donc définir l'os frais et l'os sec.

Personnellement, nous appelons os frais (portion diaphysaire) l'os débarrassé des parties molles qui l'entourent, ruginé de son périoste, ouvert et vidé de sa moelle, ruginé de sa portion spongieuse, séché avec un linge sec.

L'os sec est le même os desséché pendant 48 heures (jusqu'à poids constant) à l'étuve à 120°.

2°) La substance organique.

Si l'on abandonne l'os pendant plusieurs semaines dans une solution d'acide chlorhydrique dilué, on dissout la portion minérale de l'os. Il reste la portion organique. Celle-ci séchée dans le vide, puis épuisée à l'alcool-éther, abandonne une fraction lipique importante. Elle représente en moyenne, d'après Hugounenq, 57 % de la portion organique. Après cet épuisement, reste la portion protéique.

Celle-ci se compose de deux fractions :

- 1° L'osséine qui est une protéide,
- 2° Une osséo-mucoïde ou osséo-albuminoïde,
- 3° De l'élastine provenant des fibres de Sharpey,
- 4° Une petite quantité de nucléoprotéides et de protéides provenant des ostéoblastes, des vaisseaux et des nerfs qui pénètrent dans l'os.

En outre, de l'osséine dérivent deux substances :

- 1° L'eau surchauffée transforme l'osséine en une protéide très voisine : la gélatine.
- 2° L'osséine se dissout dans un mélange d'acide formique et d'alcool chlorhydrique d'où un excès d'alcool absolu précipite une protéide : le collagène.

Nous allons successivement étudier : l'osséine, la gélatine, le collagène, l'osséo-mucoïde.

1°) L'OSSÉINE.

C'est une scléro-protéine ; elle constitue le substratum sur lequel se fixe le matériel calcaire.

Préparation : dans nos expériences, nous avons employé la méthode indiquée dans la thèse de Ferrand avec quelques variantes de détail.

Des os débarrassés de toutes parties charnues et tendineuses, lavés à l'alcool et à l'éther pour les décaper de leurs couches de graisse superficielle, sont trempés dans un bain d'acide chlorhydrique à 4,5 % que l'on change régulièrement tous les jours. En deux ou trois jours, ces os se ramollissent considérablement ; on les ouvre facilement et on les débarrasse de leur moelle ; on les nettoie proprement ; ils sont devenus souples, translucides, se clivent facilement, on peut dès lors les hacher aussi finement que possible. Après les avoir lavés et plongés à nouveau un ou deux jours dans le bain chlorhydrique, on élimine tous les morceaux colorés, on les exprime dans un linge très propre et on les plonge dans un bain d'acide chlorhydrique contenant 4,5 % HCl (garanti pur Poulenc) en solution dans 100 cm³ d'eau distillée. Comme précédemment, ce bain est renouvelé tous les jours après agitation de plusieurs heures sur la machine à agiter. On suit la décalcification par la réaction habituelle : après concentration des eaux mères par ébullition prolongée, on ajoute à l'eau restante de l'ammoniaque pure, puis on rétablit la neutralité par de l'acide acétique et on précipite le calcium par une solution d'oxalate d'ammoniaque. Le traitement dure de trois semaines à un mois. On obtient de l'osséine entièrement dépourvue de calcium ; après dégraissage à l'alcool et à l'éther (Kumagava-Suto), on la dessèche 24 heures sous la cloche.

Caractères. Composition. C'est alors une substance assez dure, blanche, amorphe, dont on peut doser les éléments :

C	50	%
H	7	%
Az	18	%
S	0,7	%

Cette substance surchauffée sous pression se transforme en gélatine.

2°) LA GÉLATINE.

C'est une albumine de composition analogue à l'os-séiné mais soluble à l'eau bouillante et formant par refroidissement des gelées transparentes. C'est également une scléro-protéine.

Ses caractères sont les suivants : substance incolore, transparente, amorphe, flexible, cassante. Elle gonfle dans l'eau froide ; le gonflement est variable suivant le pH. A la température de 10°, une solution à 1 % de gélatine se prend en gel. A 35° le produit entre en solution.

Grâce à ses propriétés amphotères, elle modifie profondément les propriétés des électrolytes, mis en solution avec elle. Elle est précipitée de ses solutions par les réactifs précipitant les protéines. La tripsine et la pepsine transforment la gélatine en albumose et peptone.

Enfin, son point iso-électrique est à $\text{pH} = 4,7$.

Derhé étudia son spectre d'absorption en ultra-violets. On le trouvera reproduit dans sa thèse de science (1909).

Il est assez proche des spectres que nous avons obtenus pour le collagène.

3°) LE COLLAGÈNE.

A partir de l'osséine, il est possible d'obtenir une autre substance très voisine de la gélatine : la substance collagène qui, pour nous, va présenter un haut intérêt ; d'après les histologistes, elle apparaît dans les zones qui vont s'ossifier.

C'est Nageotte qui, en 1927, put extraire cette substance à partir des tendons de queues de rats en les traitant dans de l'acide acétique à 1 p. 25.000.

En 1929, Loiseleur et Urbain ont essayé d'étendre le procédé de solubilisation du collagène dans les acides et sont arrivés à une technique applicable à toutes les osséines. Ils se sont adressés aux osséines du lapin et du bœuf, obtenus par décalcification chlorhydrique des os, et lavage à l'eau. L'osséine s'est révélée insoluble dans les acides aliphatiques inférieurs, mais solubles si l'on ajoutait quelques gouttes d'acide minéral.

Les meilleurs résultats sont obtenus avec les acides formiques et acétiques, de préférence on ajoutera de l'alcool absolu et on remplacera l'acide aqueux par de l'alcool chlorhydrique.

a) *Caractères biologiques généraux des substances collagènes.*

Le collagène, obtenu à partir de l'osséine, appartient à toute une catégorie de substances : les substances collagènes dont l'intérêt capital a été mis en évidence par Nageotte.

Suivant qu'on les extrait par une méthode ou une autre (acide acétique dilué, HCl dilué, etc.), on a, d'après Nageotte, des produits qui diffèrent par un certain nombre de caractères morphologiques. C'est ainsi que l'auteur, étudiant le collagène de queues de rat, a été amené à distinguer un collagène A et un collagène B. Nageotte admet que le collagène est la substance fondamentale du tissu en voie d'ossification ; les différentes variétés de tissu conjonctif : l'élastine, la hyaline, la fibrine, peuvent à un moment donné de leur existence se transformer, d'une façon très mystérieuse encore, en collagène qui se colore mal par les colorants habituels.

Normalement, le collagène n'est pas réducteur, mais floccule d'une manière irréversible par l'action des sels métalliques réductibles ; floculations qui modifient chimiquement sa structure. Il se comporte comme tel, vis-à-vis des sels métalliques en présence. Sous l'action du chloro-platinat de potassium par exemple, à faible concentration, la floculation passe successivement du sol au gel, puis du gel au floculat ; les floculats s'agglomèrent finalement en un caillot dont la rétraction rappelle celle du caillot sanguin.

Le point nodal des travaux de Nageotte semble être l'étude de ce caillot. Il a montré la grande analogie qui existe entre les fibrilles du caillot et les fibrilles conjonctives des tissus vivants. Or, en tout endroit où se produit un dépôt calcique, il apparaît une modification du tissu conjonctif qui dès lors ressemble étrangement à cette substance collagène. Il faut signaler, toutefois, quelques différences : la fibrille collagène artificielle,

écrit Nageotte, ne peut être identifiée à la fibrille collagène anatomique du tissu conjonctif intact, dont elle n'est vraisemblablement qu'un constituant associé à d'autres protéines collagènes ou non, mais non fibrillaires. De plus, le corps obtenu par dissolution dans un acide dilué, a vraisemblablement été modifié par le traitement subi.

Enfin, Lucien a montré que des éléments épithéliaux, des fibres musculaires striées pouvaient se transformer en collagène. Pour Nageotte, il s'agit là d'un véritable métamorphisme avec remaniement de la molécule complexe des protéines.

Nous n'insisterons pas plus longuement sur le détail de ces phénomènes, car jusqu'ici ils appartiennent au domaine de l'histologie et non à celui de la chimie.

Loiseleur et Urbain, avec des solutions de collagène de Nageotte, ont provoqué chez des animaux sensibilisés des phénomènes d'Arthus. Si on prolonge l'expérience, le sérum des sujets présente des réactions de déviation du complément positives, spécifiques du collagène, et non pas des tissus du rat en général. Nous avons aussi tenté d'étudier le pouvoir antigène des collagènes ; nous avons échoué, nos lapins étant morts à la première injection ; des conditions matérielles nous ont empêché de recommencer nos expériences ; nous espérons personnellement les reprendre, car il s'agit là d'un point très intéressant. Peut-être arriverons-nous, par des procédés purement biologiques, à différencier les collagènes des différents animaux et à mettre en évidence une différence entre les collagènes d'os normaux et pathologiques. Il s'agit là en effet d'un procédé de

recherche très sensible, plus sensible certainement que les moyens chimiques utilisés.

Loiseleur et Urbain ont démontré de plus que l'émanation du radium entraîne la floculation du collagène, après lui avoir fait subir une série de transformations importantes de sa molécule. A petite dose, l'irradiation de la solution fait diminuer sa viscosité et abaisse ses propriétés antigéniques.

b) *Préparation.*

Nous avons employé la méthode de Loiseleur décrite dans la thèse de Ferrand.

L'osséine brute, complètement déminéralisée, est séchée dans un torchon et conserve seulement son eau d'imbibition, condition indispensable, car si on pousse plus loin la dessiccation, la dissolution est extrêmement lente et le produit s'hydrolyse au fur et à mesure de sa dissolution.

On prépare extemporanément un bain :

Acide formique (96, 98 %)	50 cm ³
Alcool absolu	12 cm ³ 5
Alcool chlorhydrique (23 % de HCl	1 cm ³ 5

Cette solution dissout l'osséine en 48 heures. Dans un flacon bouché à l'émeri, que l'on agite de temps à autre, on centrifuge. A la surface des tubes se rassemblent les graisses en une galette solide dont on se débarrasse avec un agitateur ; au milieu, se trouve la solution limpide, et au fond des tubes, les résidus d'osséine non dissoute. Le liquide est plus ou moins teinté suivant l'espèce animale correspondant à l'osséine utilisée.

On précipite le collagène par l'addition de 140 cm³ d'alcool, on agite, et l'agitateur agglomère un précipité blanc rosé, très élastique. On retire ce précipité et on lave abondamment à l'alcool pour éliminer l'acide. On met pendant 48 heures

le produit dans l'éther et on le malaxe dans ce liquide de temps à autre, puis on le sèche sous la cloche à vide en présence d'acide sulfurique concentré. On obtient alors un produit très dur que l'on pulvérise.

Mais à côté du collagène élastique, précipité par l'alcool, on remarque des particules granuleuses non élastiques, qui se déposent plus ou moins sur les parois du verre, dont une grande partie reste en suspension et qui correspondent vraisemblablement au produit hydrolysé.

Ajoutons que les solutions de collagène, au moment où on va les précipiter par l'alcool, présentent une odeur propre qui rappelle celle du chloroforme. Si l'alcool n'amène pas (ce qui arrive quelquefois), la précipitation, il suffit d'ajouter une trace d'alcool chlorhydrique.

c) Caractères du collagène.

C'est une poudre blanche, parfois un peu colorée suivant l'espèce animale, insoluble dans l'eau à froid où il gonfle abondamment. Si l'on chauffe jusqu'à 38°, le collagène donne une solution un peu louche, qui présente le phénomène de Tyndall. Porté à la glacière, le collagène reprecipite. De même, on provoque sa floculation par addition de sulfate de soude et d'acide acétique. Lorsqu'on pousse la température à 45°, la dissolution du collagène est donc complète, mais on ne doit pas élever la température du bain-marie sous peine d'altérer le produit.

Nous avons obtenu plusieurs sortes de collagènes chez l'animal normal :

Le collagène du lapin, celui du cobaye et du rat blanc, se présentaient sous la forme de masse blanchâtre à reflets légèrement rosés. Le collagène de bœuf que nous

avons obtenu était plus rosé certes, mais ne présentait pas cette couleur brun rougeâtre décrite par Ferrand.

Le collagène humain est blanc mat.

Un fait qui nous a frappé, c'est la solubilité du collagène en d'assez forte proportion dans le sérum frais. Dans le sérum chauffé ou vieilli, cette propriété est très atténuée.

Réactions du collagène :

Réactif de Millon : Ferrand signale un précipité légèrement rose, que nous n'avons pas à vrai dire retrouvé d'une façon générale. Parfois seulement, lorsqu'on portait le liquide à l'ébullition, une coloration légèrement rose apparaissait pour disparaître rapidement.

Réaction xanthoprotéique : très positive.

Réactif sulfotungstique : précipité abondant.

Réaction du Biuret : faiblement positive.

Réactif à l'alcool acétone : ne donne rien.

Réaction glyoxylique d'Adamkiewicz, Hopkins et Cole : négative.

Réaction furfurique de Liebermann : négative.

Réactions du soufre : négatives.

Réaction de Fehling après hydrolyse : négative.

De cette étude, il ressort que le collagène ne comprend probablement ni tyrosine, ni tryptophane, ni cystine, ni groupements hydro-carbonés.

Quelques données chimiques :

1) Ferrand, étudiant l'azote total dans divers collagènes normaux, a observé qu'il existait une différence ; cette différence justifierait la conception de Nageotte qui a signalé la possibilité de plusieurs collagènes très

voisins mais de constitutions un peu différentes. Ces variations sont cependant très faibles et l'on doit hésiter à en tenir compte pour affirmer une différence de formule entre deux collagènes.

2) De même que Loiseleur, Ferrand considère que le collagène est moins riche en azote que la gélatine.

3) Après deux heures à l'autoclave, les produits sont beaucoup plus riches en groupements aminés libres que les produits non altérés. Les résultats trouvés qui vont du simple au double mettent en lumière l'autolyse des molécules sous la seule action de la chaleur et leur transformation en gélatine.

4) Il étudia le pH isoélectrique de différents collagènes ; il est voisin de celui de la gélatine : $\text{pH} = 4,7$, sauf celui du mouton : $\text{pH} = 4,5$.

5) Enfin, il étudia les courbes de neutralisation et de pouvoir tampon de diverses solutions de collagène : après passage à l'autoclave pendant deux heures à 120° , les solutions collagéniques sont beaucoup moins tamponnées que les solutions fraîches, ce qui prouve une fragmentation de la molécule. D'autre part, les courbes de neutralisation et de pouvoir tampon présentent des particularités de détail fort nettes, révélant une constitution spéciale de la molécule avec des groupements particuliers à chaque espèce. Nous avons reproduit toutes ces expériences sur le collagène de lapin et de bœuf normaux, et trouvons les mêmes résultats.

Nous avons, par divers procédés, recherché les différences de comportement d'un certain nombre de collagènes de lapins.

Nous avons étudié du collagène d'os de lapin normal, du collagène de cals obtenus par des fractures chez le lapin normal, du collagène d'os de lapin ayant reçu des quantités importantes d'ergostérol ou d'extraits parathyroïdiens, ces animaux présentant par ailleurs tous les caractères osseux propres aux états morbides engendrés par ces facteurs. Enfin, nous avons étudié le collagène des os, de lapins thymectomisés.

Pour chacun de ces produits, nous avons successivement employé : la méthode des spectrogrammes de rayons ultra-violet, la méthode de Sørensen pour l'étude des groupements NH^2 libres, la méthode de Vlès pour les courbes de neutralisation et de pouvoir-tampon.

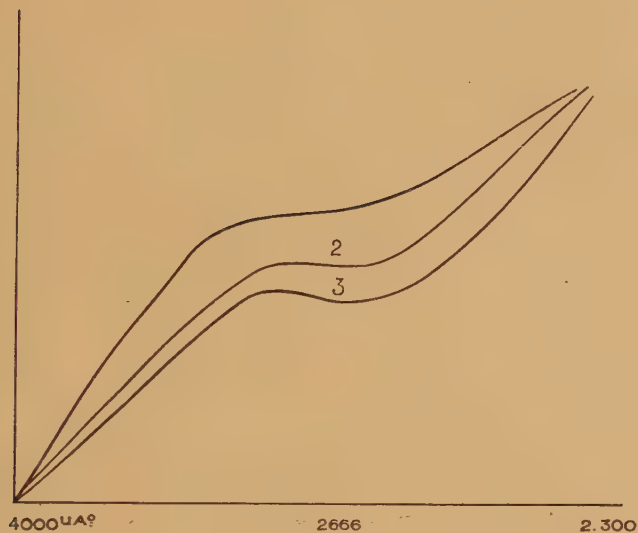
1°) Etude des spectrogrammes de rayons ultra-violet : nous avons réalisé des spectrogrammes au moyen de solution des différents collagènes, amenés à une même concentration (100 mgr. pour 100 cm^3 H_2O) et à un même pH (pH 7).

Notre technique a déjà été décrite [Florence (G.), Enselme (J.) et Pozzi (M.), *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1932, XIV, 1932-1935].

Nous avons simplement en joignant les points d'égalité de noircissement obtenu les courbes de la figure 1.

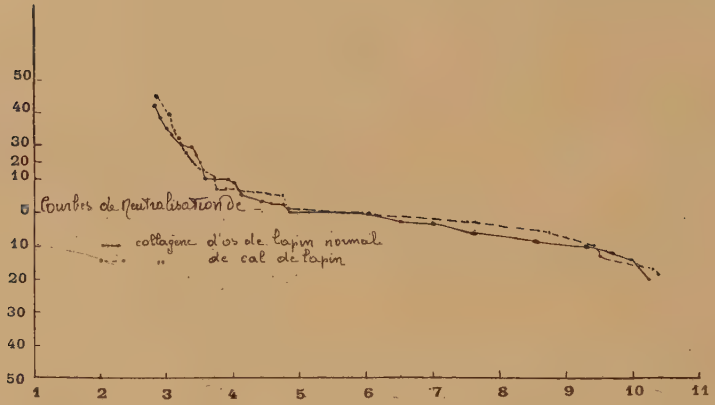
Malgré quelques variations de détails dues sans doute à des imperfections de solubilisation de certains de ces

produits, on peut considérer que ces courbes ne permettent pas de différencier les divers collagènes et n'indiquent pas de diversités structurales.

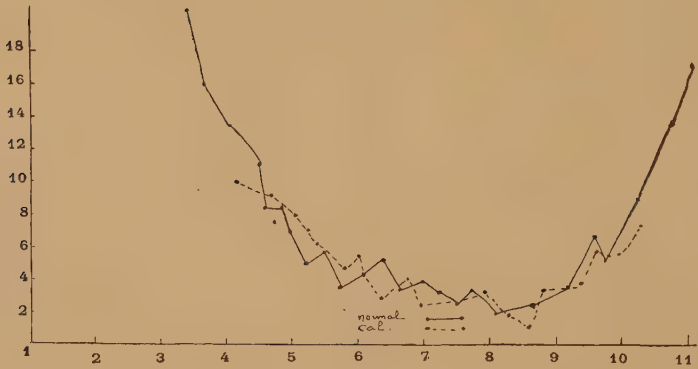


- 1 Coll. de Cal et d'os de lapin normal.
- 2 Coll. de lapin parathormonisé.
- 3 Coll. de lapin ergostérolé.
- 4 Coll. de lapin thymectomisé.

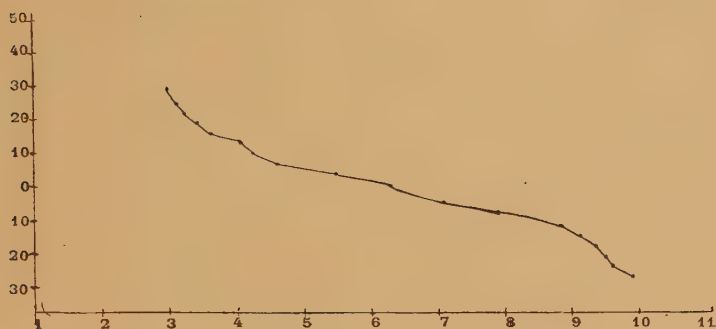
2°) Etude des courbes de neutralisation et de pouvoir tampon.



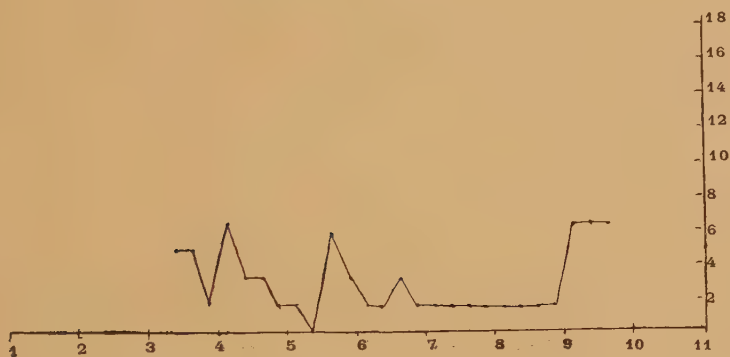
Courbes de neutralisation.



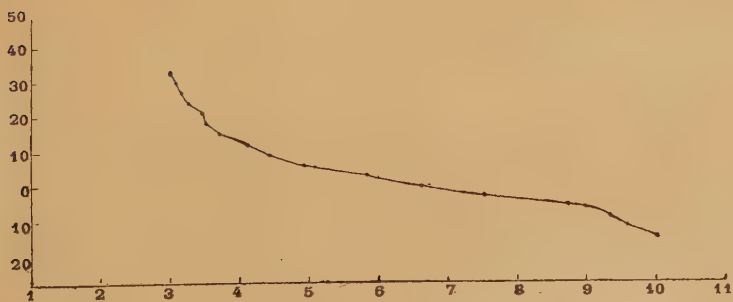
Courbes de pouvoir tampon.



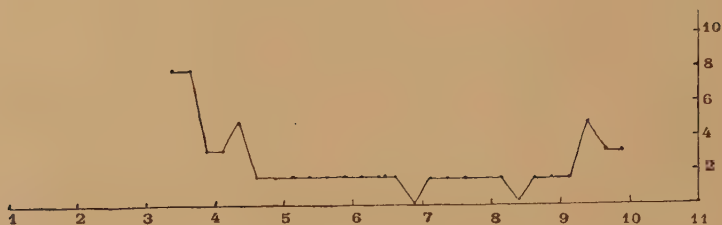
Courbe de neutralisation : lapin parathormonisé.



Courbe de pouvoir tampon : lapin parathormonisé.



Courbe de neutralisation : lapin ergostérolé.



Courbe de pouvoir tampon : lapin ergostérolé.

— Dosage des Groupements NH^2 dans ces solutions (Sørensen) .

— Lapin normal $\text{N} = 0,330$.

— Lapin ergostérolé $\text{N} = 0,373$.

— Lapin thymectomisé $\text{N} = 0,333$.

— Lapin parathormonisé $\text{N} = 0,324$.

La comparaison des courbes de pouvoir tampon et de neutralisation ci-dessus reproduites ne nous montre pas de différence évidente entre les collagènes de lapin normal, parathormonisés et hyperergostérolés. Toutefois, le collagène de lapin parathormonisé est un peu plus tamponné que les autres.

En résumé, les méthodes les plus fines d'analyse physico-chimique ne nous permettent pas de déceler des différences certaines dans la portion de l'ossein soluble dans l'acide formique. Ceci, malgré l'emploi de collagène provenant d'os parfois très altérés.

L'acide en milieu alcoolique constitue sans doute un agent de sélection qui n'isole que la portion inaltérée de l'osséine.

La quantité de collagène isolée ne semble pas cependant être la même dans tous les cas. En l'état actuel de nos techniques, il ne peut s'agir que d'une appréciation. Tout essai de dosage serait prématuré. Nous signalerons les anomalies observées au fur et à mesure que nous décrirons les diverses affections osseuses.

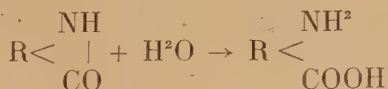
d) *Formule du collagène.*

Hoffmeister pense que le collagène est un anhydride de la gélatine. En effet, quand on chauffe du collagène dans l'eau à 90°, il se convertit en gélatine. Il traduit le phénomène par l'équation :



Il estime la réaction réversible à 130°. Emmet et Gliss s'élèvent contre cette opinion, car le produit de la gélatine porté à 130° est digéré par la trypsine ; ce ferment est sans action sur le collagène. De plus, ils ont remarqué que durant l'opération de l'hydrolyse qui fait passer le collagène à l'état de gélatine, il se dégage de l'ammoniaque : d'où modification de la formule.

Plimmer et Procter estiment que si la trypsine agit sur la gélatine, c'est parce que cette substance a un cycle ouvert, contrairement au collagène qui a un cycle fermé.



Cependant, Ferrand a montré que la gélatine contenait plus d'azote.

Se basant sur le fait que l'acide sulfurique, qui précipite le Ca, est le seul acide qui ne puisse être employé pour la dissolution de l'osséine, Loiseleur et Urhain ont été amenés à émettre l'hypothèse que l'osséine brute (décalcifiée) est formée par l'union de molécules protéiques, unies par le calcium ; ce métal existerait donc dans l'os sous deux états :

1°) Du calcium d'adsorption facilement mobilisable par un bain acide et ayant un rôle de consolidation.

2°) Du calcium de constitution engagé dans un complexe protéino-métallique résistant à la décalcification chlorhydrique. Tous ces collagènes seraient des complexes organo-métalliques.

Florence et Ferrand ont cherché à élucider le problème. Sur des osséines et des collagènes préparés au laboratoire, ils n'ont obtenu aucune cendre. Nous avons recommencé ces expériences et jamais ni sur nos osséines ni sur nos collagènes, nous n'avons pu mettre en évidence du calcium.

4°) L'OSSEO-MUCOÏDE.

La substance fondamentale de l'os comprend également une osséo-mucoïde et une osséo-albumoïde analogues à la chondro-mucoïde du cartilage. Ces substances persisteraient après l'ossification. Substances amorphes, pulvérulentes, nettement acides, elles sont insolubles dans l'eau. L'hydrolyse acide et surtout alcaline en détache des polypeptides et un complexe hydrocarboné.

Elles ne sont pas précipitées par les réactifs alcaloïdiques ; elles empêchent la précipitation de quelques matières protéiques, comme la gélatine, par les précipitants habituels.

3°) Les sels minéraux.

Trois points sont à envisager :

- 1) les techniques et leur critique,
- 2) la constitution ionique de l'os,
- 3) la nature des corps précipités.

1°) ETUDE CRITIQUE DES DIVERSES TECHNIQUES.

Diverses méthodes ont été proposées :

a) *Méthode classique : méthode avec calcination.*

L'os est d'abord séché sous la trompe à vide jusqu'à poids constant. Puis, mis dans une capsule de platine, porté 24 h. à l'étuve à 100°, ensuite calciné au Bunsen, en évitant toute projection. Les cendres sont alors reprises par les acides et l'on dose les éléments minéraux par les méthodes habituelles.

Par différence, on estime le matériel aqueux et organique.

Wells pense que cette méthode donne une opinion erronée en ce qui concerne le type des composés présents. A moins que toute la matière organique ait été préalablement éliminée, la réduction en cendre convertit le phosphore organique en phosphate et le carbone en carbonate. Nous l'avons cependant

employée, mais nous n'avons pas dosé les phosphates. Sur les cendres, reprises à l'acide chlorhydrique, nous avons pratiqué le dosage du calcium par la méthode de Hirth transformée en macrométhode par l'emploi de quantités dix fois plus grandes.

b) *Méthode de Kramer et Howeland et microméthode de Shear et Kramer.*

1°) Kramer, Howeland et Marriot, en 1926, ont repris l'étude de la composition inorganique de l'os. Voici leur technique : après avoir soigneusement éliminé les tissus mous et les tendons, les os étaient réduits en fine poudre et traités plusieurs fois à l'alcool éther neutre. Ils déterminaient le carbonate dans une très petite quantité (250 à 500 mgr.) de cette poudre. Après avoir traité cette poudre par les acides, ils ramenaient l'extrait à un volume connu, filtraient et déterminaient Ca, P, Mg suivant les méthodes de dosage qu'ils ont indiquées. Ils ont d'abord déterminé le type de phosphate présent dans l'os et le rapport phosphate/carbonate. Pour cela, il était nécessaire de supposer que tout le carbonate présent sous la forme de CO_3Ca et la petite quantité de magnésium sous forme de phosphate tertiaire : le rapport du calcium résiduel au phosphore suffit alors à montrer le type de phosphate de calcium.

Le nombre de grammes de magnésium dans 100 grammes d'os $\times 0,96$ donne le phosphore équivalent en phosphates tertiaires de magnésium ; quand ce dernier nombre est soustrait du P total, le P résiduel est obtenu.

Le nombre de grammes de CO_2 dans 100 gr. d'os $\times 0,91$ donne le calcium équivalent au CO_2 du carbonate de calcium.

Le nombre de grammes de calcium contenu dans le carbonate soustrait du Ca total donne le Ca résiduel.

Ce chiffre, divisé par celui du phosphore résiduel, donne le rapport recherché.

2°) La microméthode de Shear et Kramer s'applique à un

fragment osseux de 50 milligrammes. L'os frais est traité par un solvant des graisses (alcool-éther), la poudre d'os est ensuite extraite par une solution chlorhydrique. Dans cette solution sont dosés le calcium et le phosphore. Sur une partie de la poudre est dosé l'anhydride carbonique par la méthode de Van Slyke.

c) *Méthode de Bogert et Hastings.*

Des os de chat sont fragmentés par leur milieu et broyés dans un moulin. Les fragments fins, de la partie dense de l'os, sont séparés de façon mécanique, puis broyés dans un mortier de fer, jusqu'à ce qu'on obtienne une poudre très fine qui est tamisée. On prélève des échantillons, on les pèse avec le plus grand soin. Chaque échantillon est transporté dans l'appareil de Van Slyke et Nill. Ces échantillons sont prélevés après dessiccation jusqu'à poids constant. On prélève des échantillons de 20 mgr. pour le dosage de CO_2 . Les échantillons de 10 mgr. pour déterminer Ca et P. On suit la technique de Shear et Kramer, pour dissoudre les échantillons prélevés pour les analyses de phosphore et calcium. Toutefois, on apporte quelques modifications : après digestion par une solution acide, addition d'acide trichloracétique, on ramène le volume à 10 cm^3 ; la solution est clarifiée par centrifugation. Le calcium est alors déterminé trois fois sur des prises de 2 cm^3 par la méthode de Kramer et Tysdall. Le pH de la solution est ajusté après addition de bromocrésol rouge. Les déterminations de phosphore sont faites par la méthode de Fiske et Subbarow. La méthode utilisée pour la détermination des carbonates est celle proposée par Shear et Kramer pour la mesure directe de la teneur en CO_2 de l'os, dans l'appareil manométrique des gaz du sang de Van Slyke et Nill.

2° LA CONSTITUTION IONIQUE DE L'OS.

Citons quelques résultats :

a) Analyse de Gabrielle, rapportée par Hugounenq :

<i>Cendres %</i>		<i>Cendres %</i>	
Ca	36,6	P	2,29
Mg	0,462	Cl	0,01
K	0,13	Fl	0,03
Na	0,38	CO ²	0,01
H ² O combiné	2,46		

b) Analyse de Kramer et Howland sur un os d'humérus (prélèvement de 0 gr. 6793) :

<i>Subst. fr. %</i>		<i>Subst. fr. %</i>	
CO ²	3,25	Ca	20,1
Mg	0,3	P	9,1

c) Analyse de Bogert et Hastings (moyenne suivant les méthodes utilisées) :

Ca : de 26,5 à 35,5 %
P : de 12 à 17 %
CO² : de 3,76 à 4,58 %.

3° LA NATURE DES CORPS PRÉCIPITÉS.

Depuis les études des spectres de rayons X pratiquées par Bragg et Bragg, puis par Debye et Scherrer, on pense que pour beaucoup de sels la disposition ionique persiste, même à l'état solide. Les solvants permettraient aux ions de s'écarter tout en conservant leur position réciproque. Il n'en ressort pas moins qu'il convient de fixer la nature des ions. Cette question présente

un très haut intérêt pratique puisqu'elle permettra de discuter les conditions de précipitations qui varient avec chaque ion.

Nous ne pouvons, hélas, apporter que des hypothèses :

1° Pour Holt, La Mer et Chown, « seuls le calcium et le phosphore sont présents en quantités relativement importantes, dans l'os. Le rapport, qui existe entre ces éléments, est toujours exactement celui requis pour le sel $(\text{PO}_4)^2 \text{Ca}^3$. Il est donc généralement admis que 85 % de la matière inorganique de l'os est constitué par ce sel, 14 % par du carbonate de chaux et le reste par du carbonate de magnésie et divers sels alcalins ».

Cette hypothèse est violemment contestée par Shear et Kramer. Le rapport Ca/P, qui est la clef de voûte de l'hypothèse qui suppose que l'os est constitué par du phosphate tricalcique, doit être pour ce sel de 1,94 ; or, ce chiffre n'est retrouvé qu'approximativement au niveau de l'os. Ces différences constatées ne peuvent toutes être mises sur le compte des erreurs expérimentales.

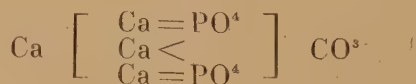
2° Pour Shear et Kramer, il s'agit d'un mélange de phosphate dicalcique et de chaux. Ces auteurs tirent leur affirmation du fait que la courbe de neutralisation de l'acide phosphorique par la chaux reste constante au pH : 7 environ pendant l'addition d'un deuxième et d'un troisième équivalent de $\text{Ca}(\text{OH})^2$.

3° Depuis longtemps, de nombreux auteurs ont voulu voir des complexes du type Werner dans la présence, au niveau de l'os, d'ions qui, dans la nature, s'unissent généralement pour former de tels corps.

Dès 1862, Hoppe-Seyler attira l'attention sur les quantités relatives de calcium et de phosphore existant dans les os, et montra qu'elles correspondaient très étroitement aux rapports trouvés dans les phosphates naturels les plus importants.

Fluoro-apatite	$3 \text{ Ca}^3 (\text{PO}^4)^2 \text{ Ca Fc}^2$
Chloro-apatite	$3 \text{ Ca}^3 (\text{PO}^4)^2 \text{ Ca Cl}^2$
Hydroxy-apatite	$3 \text{ Ca}^3 (\text{PO}^4)^2 \text{ Ca (OH)}^2$
Oxy-apatite	$3 \text{ Ca}^3 (\text{PO}^4)^2 \text{ Ca O}$
Carbonate-apatite	$3 \text{ Ca}^3 (\text{PO}^4)^2 \text{ Ca Co}^3$

Prenant, étudiant les formes minéralogiques du calcaire chez les êtres vivants, montre que sur douze variétés minéralogiques connues de carbonate calcaïque, un certain nombre seulement sont trouvées dans les règnes organisés, et que toutes correspondent aux variétés anhydres. Chez un animal donné, et en un point donné, la forme minéralogique est toujours la même. Mais sous des influences diverses, à peu près inconnues encore, de lentes modifications se produisent dans le dépôt calcaire (cristallisation, transformations colloïdales). Marcel Prenant a étudié ces remaniements dans l'épiphragme de l'escargot. Cretin les décrit chez les mollusques et les mammifères. Pour chaque molécule de CO^2 que contient un os frais, on y trouve 4 atomes de calcium et 2 de phosphore. Ces proportions correspondent soit à un mélange en proportion équimoléculaire de phosphate tricalcique et de carbonate neutre de calcium, soit à un sel complexe du type de l'apatite de Werner, comme le pense Gassman.



Bogert et Hastings donnent une formule analogue.

Ces auteurs ont constaté que les préparations commerciales de phosphate tricalcique contenaient une quantité appréciable, mais variable, d'apport de carbonate, et n'ont, de ce fait, pas une composition uniforme. Mais dans tous les échantillons, le rapport Ca/P est le même. C'est celui des sels de l'os. La formule donnée par Gassmann est adoptée par de nombreux auteurs. Cependant, l'incertitude règne à ce sujet, que n'ont pu éclaircir les examens spectrographiques et microcristallographiques, dans le détail desquels nous n'entrerons pas.

Récemment, (1931), Roseberry, Hastings et Morre, à l'aide de la spectrographie ont étudié à nouveau les différents sels de calcium constituant l'os. Ils confirment les conclusions des travaux précédents.

Les os contiendraient une substance cristalline minérale, de la série de l'apatite, ayant pour type de formule:
 $n \text{ Ca}^3(\text{PO}^4)^2 \text{ Ca Co}^3$ ou $n \text{ Ca}^3(\text{PO}^4)^2 \text{ Ca} \times 2 \quad n = 2 \text{ ou } 3.$

Les os broyés, fondus dans du chlorure de sodium donnent, comme l'apatite, un complexe insoluble dans l'eau, dans lequel le radical CO^3 , de la formule indiquée ci-dessus, est remplacé par le chlore. Si le chlorure calcique était simplement mélangé à du phosphate tricalcique, il se séparerait de ce dernier en se dissolvant dans l'eau. Cette expérience n'est cependant pas concluante en faveur d'un complexe insoluble du type de l'apatite dans les os, parce qu'un mélange des deux sels calciques préparé *in vitro* et fondu dans le NaCl donne le même résultat.

Ajoutons enfin que, par des procédés histologiques divers : microincinération (Policard, Schmorl), coupe fixée et colorée (Kossa, Cretin, Li Yuan Po), spectromicrographie (Gerlach), on a pu étudier histologiquement l'élément inorganique fondamental de l'os : le calcium.

4°) Alors que la plupart des auteurs estiment que la répartition des sels de chaux présente un taux variable dans les différentes parties d'un même os, et, tout au moins, dans les différents os du squelette, Bogerts et Hastings prétendent que la composition chimique du complexe est la même dans le squelette d'un même individu; non seulement le rapport calcium/phosphore serait constant, mais le taux des cendres et du calcium serait constant dans un même os (partie interne et partie externe du cortex).

Il semble que cette opinion, contraire à tous les résultats publiés jusqu'ici, demande vérification.

Hess, Berliner et Weinstock ont montré encore récemment que le rapport des cendres au poids de l'os sec était différent en ce qui concerne l'épiphyse et la diaphyse d'un même os.

II. — ETUDE DES MODIFICATIONS DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DE L'OS AVEC LE VIEILLISSEMENT

Ce qui intéresse la calcification, c'est moins la constitution de l'os adulte que celle de l'os en pleine calcification de l'os jeune. C'est le corps déposé dans ces conditions qu'il convient de connaître, afin de fixer les conditions de sa précipitation.

1° Milne Edward signala, Hugounenq montra, que l'os embryonnaire contient peu de carbonates. C'est sous forme de phosphates que se dépose essentiellement le calcium dans l'os jeune.

2° Holt, La Mer et Chown ont montré que, dans les expériences *in vitro* qui aboutissent à la précipitation de phosphate tricalcique, celle-ci est précédée, pendant quelques jours, par la formation de phosphate dicalcique.

Shear et Kramer ont étudié le rapport Ca/P dans divers os de différents âges.

On sait que ce rapport est de 1,94 pour $(\text{PO}^4) \text{Ca}$; il est de 1,29 pour $\text{PO}^4\text{H}^2 \text{Ca}^3$; il dépasse 1,29 dans le mélange $\text{PO}^4\text{H} \text{Ca}$ et $\text{Ca}(\text{OH})^2$, se montrant très variable selon la quantité de chaux présente et dépassant rapidement deux.

Or, dans les premiers jours de sa formation, l'os présente un rapport 2,23 ($\pm 0,03$) qui tombe ensuite à 1,99 ($\pm 0,01$).

Kramer et Shear en concluent que l'os jeune est formé essentiellement de phosphate dicalcique de chaux. Secondairement, le phosphore dicalcique se transforme en un mélange de phosphate tricalcique et de carbonate de chaux.

III. — LES FACTEURS DE LA CALCIFICATION

L'os est constitué par une masse minérale fixée sur un minime support organique. Il est donc probable que la concentration des ions dans la lymphe périosteuse est d'une importance capitale.

Des calcifications n'apparaissent pas normalement en tous les points de l'organisme, mais seulement aux points où se trouve un support protéique spécial, il est donc probable que le rôle de ce support est, lui aussi, de première importance.

Enfin, des ascs capables de concentrer en certains points l'un des ions, l'ion P, jouent aussi un rôle de premier plan.

Ce sont ces divers facteurs que nous allons étudier :

1° LE FACTEUR IONIQUE.

Lorsqu'une substance peu soluble est placée en assez grande quantité en milieu aqueux, il se forme deux phases : l'une, liquide, contient des ions Ca^{++} et $\text{PO}_4^{=}$, l'autre, solide, qui contient des molécules $(\text{PO}_4)^2\text{Ca}^3$.

A la période d'équilibre, une équivalence se forme entre les ions qui passent d'une phase dans l'autre, et la concentration des ions dans chaque phase est constante.

Les ions qui se trouvent dans la phase liquide obéissent à la loi d'action de masse, et leur dissociation peut s'écrire :

$$\frac{[\text{PO}_4^{4-}]^2 \times [\text{Ca}^{++}]^3}{[(\text{PO}_4)_2 \text{ Ca}_3]} = K$$

Mais par suite de la présence de la phase solide, la portion non dissociée peut être considérée comme une constante, et l'on peut écrire :

$$[\text{PO}_4^{4-}]^2 \times [\text{Ca}^{++}]^2 = K$$

K qui est le produit des ions de la phase liquide, le « produit ionique », porte le nom de produit de solubilité si, comme c'est ici le cas, la phase liquide est en équilibre avec la phase solide. Il représente donc le produit ionique qui correspond à la précipitation. Si le produit ionique dépasse ou égale le produit de solubilité, la précipitation se fait si le produit ionique est inférieur au produit de solubilité, la précipitation ne se fait plus et une partie des ions précipités repassent en solution.

On comprend, dès lors, l'importance qu'il y a à connaître :

1° le produit ionique d'un milieu naturel dans lequel doit se faire une précipitation ;

2° les produits de solubilité des corps qui doivent être précipités.

Par convention, et pour simplifier l'énoncé de leur valeur, nous ne parlerons pas du produit ionique, mais de l'inverse de son logarithme, le p (produit ionique), de même que nous remplacerons le produit constant de solubilité (K_{sp}) par l'inverse du logarithme de sa valeur, le p (K_{sp}). Il s'en suit une inversion dans l'interprétation des résultats : un p (K_{sp}), étant connu toute valeur du p (produit ionique) du même corps égale ou inférieure au p (K_{sp}) suppose une précipitation, toute valeur supérieure suppose une solubilisation.

a) *Calcul du p (produit ionique) :*

Prenons l'exemple des phosphates de chaux :

L'analyse de la phase liquide nous fait connaître :

la concentration en phosphore,
la concentration en calcium,
le pH du milieu.

Connaissant la valeur du pourcentage de Ca, dans le milieu, et son poids atomique : 40, il est facile de calculer sa concentration atomique $x/40$.

Nous connaissons aussi le pourcentage de P. Mais celui-ci, selon le pH, donne naissance à des quantités variables des divers ions :



Nous pouvons calculer la valeur de chacun d'après les formules classiques :

$$\frac{[H^{+}] \times [PO_4H_2^{-}]}{[PO_4H_3]} = 1. 10^{-2} = K_1 \quad (3)$$

$$\frac{[H^+] \times [PO^4H=]}{[PO^4H^2-]} = 1. 10^{-7} = K_2 \quad (4)$$

$$\frac{[H^+] \times [PO^4\equiv]}{[PO^4H]} = 4. 10^{-13} = K_3 \quad (5)$$

Le phosphore total se répartit dans les divers ions ou molécules, et l'on peut écrire :

$$[P] = [PO^4H^3] + [PO^4H^2-] + [PO^4H=] + [PO^4\equiv] \quad (6)$$

En transposant ces diverses équations, on a :

$$[PO^4H=] = \frac{[H^+] \times [PO^4\equiv]}{K_3} \quad (7)$$

$$[PO^4H^2-] = \frac{[H^+] \times [PO^4H=]}{K_2} = \frac{[H^+]^2 + [PO^4\equiv]}{K_2 K_3} \quad (8)$$

$$[PO^4H^3] = \frac{[H^+] \times [PO^4H^2-]}{K_1} = \frac{[H^+]^2 + [HPO^4=]}{K_1 K_2} \quad (9)$$

$$= \frac{[H^+]^3 \times [PO^4\equiv]}{K_1 K_2 K_3}$$

En substituant dans l'équation (6) les valeurs trouvées pour (PO^4H^3) , (PO^4H^2-) et $P(O^4H=)$ en fonction de PO^4 , on a :

$$P = \frac{[H^+]^3 \times [PO^4\equiv]}{K_1 K_2 K_3} + \frac{[H^+]^2 \times [PO^4\equiv]}{K_2 K_3} + \frac{[H^+] \times [PO^4\equiv]}{K_3} + [PO^4\equiv] \quad (10)$$

en mettant PO^4 en facteur commun, on a :

$$P = [PO^4\equiv] \frac{[H+]^3}{K_1 K_2 K_3} + \frac{[H+]^2}{K_2 K_3} + \frac{[H+]}{K_3} \quad (11)$$

et en calculant la valeur de $(PO^4\equiv)$, on a :

$$[PO^4\equiv] = \frac{[P] K_1 K_2 K_3}{[H+]^3 + [H+]^2 K_1 + [H+] K_1 K_2 + K_1 K_2 K_3} \quad (12)$$

Et en substituant dans les équations (7) et (8) les valeurs de $[PO^4\equiv]$ dans l'équation (12), on a :

$$[PO^4H=] = \frac{[P] [H] K_1 K_2}{[H+]^3 + [H+]^2 K_1 + [H+] K_1 K_2 + K_1 K_2 K_3}$$

$$[PO^4H^2-] = \frac{[P] [H+]^2 K_1}{[H+]^3 + [H+]^2 K_1 + [H+] K_1 K_2 + K_1 K_2 K_3}$$

On a alors :

p (produit ionique) $(PO^4)^2 Ca^3 = 3 (-\log. [Ca^{++}]) + 2 \log. [PO^4\equiv]$
somme dont le calcul est facile.

Etude du p (produit ionique) de $(PO^4)^2 Ca^3$:

On applique la formule :

$$\text{produit ionique } (PO^4)^2 Ca^3 = [Ca^{++}]^3 \times [PO^4\equiv]^2$$

ou :

$$p \text{ (produit ionique) } (PO^4)^2 Ca^3 = 3 (-\log[Ca^{++}]) + 2 (-\log[PO^4\equiv])$$

$-\log (Ca^{++})$ est facile à calculer

$-\log (PO^4\equiv)$ se calcule d'après la formule précédemment donnée :

$$-\log (\text{PO}_4^{4-}) = (-\log (\text{P})) + \frac{\text{K}_1 \text{K}_2 \text{K}_3}{[\text{H}^+]^3 + [\text{H}^+]^2 \text{K}_1 + [\text{H}^+] \text{K}_1 \text{K}_2 + \text{K}_1 \text{K}_2 \text{K}_3}$$

Il est commode de calculer la valeur de cette dernière partie de l'équation, car elle est constante pour un pH donné.

Valeur de l'équation :

$$-\log \frac{\text{K}_1 \text{K}_2 \text{K}_3}{[\text{H}]^3 + [\text{H}]^2 \text{K}_1 + [\text{H}] \text{K}_1 \text{K}_2 + \text{K}_1 \text{K}_2 \text{K}_3}$$

pH 7,1	5,553	pH 7,45	5,08
pH 7,15	5,48	pH 7,5	5,038
pH 7,2	5,41	pH 7,55	4,96
pH 7,25	5,34	pH 7,6	5,8967
pH 7,3	5,274	pH 7,65	4,84
pH 7,35	5,21	pH 7,7	4,777
pH 7,4	5,14		

Les calculs sont dès lors très simplifiés. Voici un exemple :

Données expérimentales :

$$\text{Ca} = 0,1 \text{ } \%$$

$$\text{P} = 0,04 \text{ } \%$$

$$\text{pH} = 7,35 \text{ } \%$$

On a Ca en valeur moléculaire = 0,0025 dont le log est : $\bar{3},4$ et l'inverse du log = 2,6.

La concentration en phosphore est, en valeur moléculaire :

0,0013 dont le log. est : $\bar{3},11$ et l'inverse du log. = 2,89

à pH 7,35 la constante à ajouter est, nous l'avons vu = 5,21

$$\text{le } \text{p}(\text{PO}_4) = 2,89 + 5,21 = 8,1$$

dès lors :

$$\text{p (produit ionique)} = (3 \times 2,6) + (2 \times 8,1) = 24.$$

Etude du p (produit ionique) de $PO^4H\ Ca$.

Le calcul se fait pour le précédent, mais au moyen de l'équation qui donne la valeur de PO^4H , équation que nous avons donnée précédemment.

Shear et Kramer ont montré que, dans le sérum, le p (produit ionique) $PO^4H\ Ca$ est proportionnel au simple produit des concentrations des ions Ca et P à pH 7,35.

Ca = 10 % en milligr.

P % en milligr.	Ca × P	Produit ionique
6	60	4×10^{-6}
5	50	$3,3 \times 10^{-6}$
4	40	$2,7 \times 10^{-6}$
3,5	35	$2,3 \times 10^{-6}$
3	30	2×10^{-6}
2	20	$1,3 \times 10^{-6}$
1,5	15	1×10^{-6}

Pratiquement, au pH normal, on peut donc, pour simplifier, substituer à l'étude du p (produit ionique) de $PO^4H\ Ca$ le simple produit des valeurs du pourcentage du calcium et du phosphore dans le milieu.

b) Calcul du p (Ksp) de $(PO^4)^2Ca^3$.

Holt, La Mer et Chown ont montré que le produit de solubilité de $(PO^4)^2Ca^3$ est de $10^{-32,5}$

p (produit solubilité) $(PO^4)^2Ca^3 = 32,5$ à 38° .

Il est affecté par la présence de sels étrangers et dans un milieu qui contient un mélange salin qui est à peu près celui du sang (ou de la lymphe), il devient :

p (produit solubilité) $(PO^4)^2Ca^3$ en milieu salin = $27,2$ à 38° .

c) Calcul du p (Ksp) de $PO^4H\ Ca$.

Holt, La Mer et Chown ont montré que

p (Ksp) $PO^4H\ Ca = 6,4$

ce qui correspond au produit Ca × P (%) = 35.

Il convient d'insister sur ce point. Toutes ces formules ne sont applicables, au sens strict du mot, qu'aux solutions diluées.

Tenant compte des coefficients d'activité comme élément correctif des valeurs ioniques, Sendroy et Hastings donnent pour les p (produits ioniques), pour les p (K_{sp}) des valeurs un peu différentes de celles présentées par Holt, La Mer et Chown. Ils approchent ainsi du chiffre exact. Ils ne l'atteignent certainement pas car la transposition de leurs données au sérum comporte encore de grosses causes d'erreur. En pratique, l'erreur de calcul que présentent les formules de Holt, La Mer et Chown est toujours la même, et si les valeurs absolues sont fausses, le rapport de ces valeurs reste exact et la comparaison est légitime. Ce résultat est suffisant pour indiquer le sens d'un phénomène.

On peut encore considérer le p (produit ionique) CO^3Ca , le $p(K_{sp})$ de CO^3Ca . Mais il s'agit d'un autre problème que nous n'envisageons pas ici.

2° LE FACTEUR PROTÉIDIQUE.

En faveur de son rôle, nous avons les arguments suivants :

1° un argument de simple bon sens. Puisque les calcifications ne se font que dans certains territoires anatomiques, c'est qu'en ces points, des modifications spécifiques se sont produites.

2° Un argument histologique important, dont l'exposé est dû à Leriche et Policard :

Les processus d'ossification directe dans le tissu conjonctif évoluent en trois phases :

a) Le tissu conjonctif s'œdématie et tend à revenir à l'état embryonnaire.

b) Dans ce tissu conjonctif ainsi préparé se fait une infiltration de nature spéciale. Il apparaît une substance préosseuse ou ostéoïde, homogène, d'une réfringence particulière. Cette substance n'est ni dure ni calcifiée. C'est à tort qu'on l'appelle parfois osséine, elle paraît être une substance collagène, plus ou moins condensée et modifiée.

c) La substance préosseuse s'imprègne de sels calcaires et l'os est alors formé.

Diverses théories ont été émises sur le rôle des protéides. Elles se ramènent à trois mécanismes :

1°) Les protéines se combinent au calcium en donnant un protéinate.

L'osséine se comporte comme un anion, le pH des humeurs étant nettement alcalin et forme un protéinate de chaux. Cette combinaison est probable, mais elle n'explique pas le phénomène de la calcification. La quantité de calcium ainsi fixé est presque nulle, car le nombre des groupements COOH, libres du collagène, est très petit.

Nous avons essayé de fixer du calcium sur : 1° de l'osséine, 2° du collagène, à partir de solutions contenant calcium et phosphore.

Voici les résultats trouvés :

PREMIÈRE EXPÉRIENCE.

De l'osséine est desséchée au vide jusqu'à poids constant et partagée en trois portions.

Première portion : minéralisée : calcium des cendres = 0.

Deuxième et troisième portions sont mises en solution pendant 48 heures au frigidaire avec un mélange comprenant : phosphate monocalcique = 8 gr., bicarbonate de soude à saturation. Eau = 125 cm³.

La deuxième portion dont le poids = 0 gr. 2368 est ajustée à un pH = 4,61.

Après 48 heures, on effectue une forte dialyse.

On ne trouve pas de calcium fixé.

La troisième portion dont le poids = 0 gr. 3372 est portée à un pH = 7,21.

Le calcium fixé est de 0,049 %.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE.

Quatre portions d'osséine.

1°) Témoin = 0 gr. 656 — pas de calcium dans les cendres.

2°) Les autres portions sont mises dans une solution ainsi composée : 100 cm³ d'eau sont saturés par du phosphate monocalcique. On ajoute 5 gr. de bicarbonate de soude et on complète à 500 cm³. On ajoute de l'acide chlorhydrique jusqu'à disparition de tout précipité, de telle sorte que lorsqu'on aura ajusté le pH, un précipité lent se déposera dans les solutions portées à la glacière.

La solution est divisée en trois parties :

Dans la première, on ajoute 0 gr. 375 d'osséine ; on ajuste le pH à 6,25. Un très léger précipité se forme. Le surlendemain, le pH de la solution est à 5,76. On effectue une forte dialyse.

Calcium fixé = 0,037 %.

Dans la deuxième, on ajoute 0 gr. 340 d'osséine ; pH porté à 7,42 ; apparition d'un précipité moyen à la glacière. Le surlendemain : pH = 6,79 — forte dialyse.

Calcium fixé = 0,02 %.

Dans la troisième, on ajoute 0 gr. 521 d'osséine ; pH = 8,69 ; gros précipité. Surlendemain pH = 7,23. Forte dialyse.

Calcium fixé = 0,036 %.

TROISIÈME EXPÉRIENCE.

Quatre portions d'osséine.

Première portion : témoin — calcium des cendres = 0.

Deuxième portion : poids = 0 gr. 370 — mise dans une solution à 10 % de CaCl^2 — pH = 7,43 — portée 48 heures à la glacière, puis forte dialyse.

Calcium fixé = 0,022 %.

Troisième portion : poids = 0 gr. 367 — mise dans une solution à 5 % de CaCl^2 — pH = 7,30 — portée 48 heures à la glacière, puis forte dialyse.

Calcium fixé = 0,0172 %.

Quatrième portion : poids = 0 gr. 366 — mise dans une solution à 1 % — pH = 7,33 — portée 48 heures à la glacière — forte dialyse.

Calcium fixé = 0.

QUATRIÈME EXPÉRIENCE.

Du collagène obtenu suivant la méthode précédemment décrite, est mis dans une solution de phosphate monocalcique (10 gr. pour 100 cm³ d'eau). Poids du collagène = 0 gr. 300. On porte à la glacière 48 heures. Forte dialyse.

Calcium fixé = 0,04 %.

En résumé, d'après ces expériences, on constate qu'une très petite quantité de calcium se fixe à un pH alcalin. Cette quantité est plus grande avec des solutions plus concentrées, plus grande lorsque dans la solution se trouve un phosphate. Il est vraisemblable qu'il existe alors un protéinate de calcium, mais en aucune façon, on ne saurait expliquer le mécanisme de la calcification par ces phénomènes.

2°) La combinaison protéidique est un phénomène transitoire.

Théories de Freudenberg et Giorgy.

Dès 1921, en Allemagne, Freudenberg et Giorgy ont montré le pouvoir d'adsorption des tissus, en particulier des tissus osseux ; poussant leurs expériences, ils ont été amenés à attribuer un rôle très important dans la calcification aux protéines. De même que d'autres auteurs, par la suite (Schipley, Howland et Kramer, etc.), ils ont étudié la fixation du calcium par les tissus ostéoïdes.

Ils considèrent ce tissu comme analogue à une autre protéide : la caséine, par exemple, qui peut donner un composé calcique. Sur ce fait, ils ébauchent toute une théorie sur la calcification. Elle repose sur l'expérience suivante :

Un morceau d'os jeune, en voie d'ossification, fixe du calcium quand il est immergé dans une solution d'un sel calcique, ne contenant pas de phosphate et dont le pH est supérieur à 5 (point iso-électrique). Si on immerge ensuite cet os dans du phosphate alcalin, il se dépose du phosphate tricalcique dans le tissu ostéoïde. Le morceau d'os jeune immergé dans la solution de phosphate alcalin d'abord, ne fixe pas de phosphore.

Partant de cette expérience, ils nient l'hypothèse ancienne de Pfaunders, qui suggérerait une affinité spéciale du tissu ostéoïde pour le calcium et explique la calcification de la façon suivante, en trois temps :

1°) Fixation du calcium sur la matière protéique par

formation d'un protéinate de calcium analogue à celui du sang.

2°) Les phosphates et les carbonates de la lymphe interstitielle se combinent au calcium.

3°) Les valences acides et la matière protéique sont alors libérées et peuvent fixer à nouveau du calcium.

Le processus ne se produirait pas dans d'autres tissus par suite de la présence de substances inhibitrices de nature azotée.

Freudenberg et Giorgy ont longuement étudié ces substances. Celles dont l'action inhibitrice est plus marquée sont les suivantes : amino-acides, peptides, imidasols, amines, bases guanidiques, créatinines, bicarbonates, urées, NH^+Cl .

Le caractère inhibiteur de ces substances sur le processus de la calcification d'un tissu osseux, a été mis en évidence par addition de ces substances à la préparation « in vitro ».

Quant au motif pour lequel le processus s'arrête spontanément dans l'os adulte, l'expérience n'apporte aucun renseignement.

Quelles sont les critiques que l'on peut adresser à cette théorie ?

Il ne s'agit tout d'abord, que d'une hypothèse donnée par les auteurs : l'explication de Holt, Kramer, etc..., de la sursaturation ionique du milieu interstitiel, répond aussi bien à cette expérience l'adjonction de l'ion (PO_4^{4-}) provoqué la précipitation du phosphate tricalcique.

Cependant, les deux théories se complètent puisqu'elles ne s'opposent, et l'on peut admettre que le Ksp

$(\text{CO}_3^{2-})_2\text{Ca}^{2+}$ ou de Po^4HCa est atteint justement par suite de la condensation des ions PO_4^{3-} ou PO_4H^- sur les tissus protéiques.

3°) On peut enfin supposer que les protéines passant à la substance préosseuse augmentent simplement leur pouvoir adsorbant. L'adsorption condense les ions en surface du support adsorbant. Il s'en suit une modification locale du produit ionique des divers phosphates calciques, condensation qui leur permet d'atteindre leur K_{sp} particulier. Dès lors, la précipitation devient un phénomène banal. Cette hypothèse prend une forme précise dans la théorie de Benjamin.

Théorie de Benjamin.

Récemment, (1933), Benjamin, à la suite d'expériences multiples, donne une autre explication de la calcification, très différente de la théorie de Freudenberg. La matière protéique interviendrait comme adsorbant.

Dans le sang, certains auteurs ont mis en évidence l'existence d'un complexe calcium-phosphore qui forme la partie diffusible non ionisée du sérum. Depuis les travaux de Klinke, on sait que ce complexe est adsorbable par le sulfate de baryum, et tous les adsorbants positivement chargés. Benjamin a pu réaliser des solutions artificielles et constater la présence de ce complexe ; la plus simple, dans laquelle ce complexe fût trouvé, contenait seulement du phosphate de calcium, CO_2 et des bicarbonates. Or, cet auteur a montré que le cartilage épiphysaire des os longs avait la propriété d'adsorber le complexe calcium-phosphore :

Lorsque Benjamin adsorbait le complexe par du sulfate de baryum, ultérieurement la solution restante ne cédaît ni calcium, ni phosphore au cartilage.

De plus, la propriété d'adsorber ce complexe serait limitée à la partie du cartilage où l'ossification est en train de se faire, en particulier à la région de jonction de l'épiphyse et de la métaphyse. Le reste du cartilage des épiphyses des os longs, aussi bien que le cartilage des côtes, qui ne se calcifie jamais, n'absorbe pas le complexe. Benjamin s'oppose à la théorie exposée par Kramer, Howeland, Holt, Murray, Hastings, Sendoy, etc..., et explique le mécanisme de la calcification par l'adsorption du complexe calcium-phosphore sur les tissus en voie d'ossification.

CRITIQUE GÉNÉRALE DE CES TRAVAUX.

Chacune des hypothèses précitées, repose évidemment sur des faits intéressants. Mais aucune conception, la plus rigoureuse, la plus mathématique, même celle de la sursaturation ionique, n'a le droit, ni la nécessité, d'être exclusive. La calcification apparaît comme un phénomène tellement complexe qu'il est difficile d'accepter une conception et de rejeter les autres. Le facteur protéique joue certainement un rôle. Ce souci de le faire intervenir dans les phénomènes que nous étudions se retrouve dans le livre de MM. Leriche et Policard, dans certains articles de MM. Mouriquand et Leulier, sur les facteurs de la calcification dans le rachitisme.

Tous les auteurs précités reconnaissent la difficulté du problème.

Dans toutes leurs expériences, les biologistes auteurs des théories citées plus haut, ont cherché à fixer du calcium sur la substance osseuse : l'osséine « in vitro ». Or, si l'osséine est, sans nul doute, le substratum de la matière calcaire dans l'os constitué, ce n'est pas la substance qui existe dans les tissus en voie d'ossification.

3°) LE FACTEUR DIASTASIQUE : LES PHOSPHATASES,
TRAVAUX DE ROBISON.

C'est Robison qui, le premier, attira l'attention sur les enzymes que l'on rencontre dans l'os jeune et les cartilages en voie d'ossification (1923). Dans ce mémorable travail, il établissait les faits suivants :

L'enzyme, rencontré dans les cartilages en voie d'ossification et les os jeunes, est une phosphatase qui hydrolyse rapidement l'éther hexose monophosphorique avec libération d'ion PO_4^{4-} libre. Ce même ferment se rencontre dans le rein, quelque peu dans la rate, le pancréas, mais ni le muscle, ni le cartilage non calcifié n'en contiennent. Par contre, tous renferment une hexose diphosphatase.

Robison admit alors l'hypothèse que cet enzyme qu'il a découvert dans l'os, agit sur les processus d'ossification en effectuant l'hydrolyse des éthers monophosphoriques. La concentration locale en ions phosphate inorganique est accrue, de même les produits ioniques de $(\text{PO}_4)^2\text{Ca}^2$ et PO_4HCa . Il se fait une préci-

pitation de phosphate de calcium, et la calcification se produit.

Il convient d'étudier :

1°) la phosphatase de Robison ;

2°) son action dans les processus de calcification.

La phosphatase de Robison.

Préparation : Plusieurs techniques furent indiquées, peu différentes du reste (Robison et Soames, Kay et Martland, Martland et Robison, Bakwin et Bodansky).

Une méthode très simple et qui nous a permis au laboratoire d'obtenir une phosphatase active, est celle décrite par Martland et Robison en 1929.

Technique. — Immédiatement après la mort, on prélève des os de jeunes lapins ; on les libère des muscles, tendons, qui les entourent ; on les fend longitudinalement et on enlève la moelle. Ces os sont broyés en fine poudre dans un mortier et mis dans un flacon avec 7 fois leur poids d'eau. On ajoute quelques gouttes de chloroforme. Le flacon, bouché à l'émeri, est laissé à la température de la chambre, 7 à 10 jours. L'extrait est filtré. On obtient un second extrait, tout aussi actif, en plongeant la poudre d'os dans une nouvelle quantité d'eau 6 à 7 jours. L'enzyme est précipité par 300 cm³ d'alcool mélangé à 200 cm³ d'éther (pour 100 cm³ d'extrait). Dans les minutes qui suivent apparaît un flocculat que l'on filtre, lave à l'alcool absolu et sèche dans le vide. On obtient ainsi une poudre blanche qui se disperse rapidement dans l'eau. On la purifie en la précipitant plusieurs fois par l'alcool pur et l'éther.

Propriétés : La phosphatase ainsi obtenue présente un optimum de pH entre 8,7 et 9,1 ; son activité est

maxima autour de 37°. Elle hydrolyse le glycéro-phosphate de soude β et non le glycéro-phosphate de soude α . De même, la phosphatase de Robison hydrolyse l'éther hexose-monophosphorique et non l'éther hexose-diphosphorique.

Ce sont là des caractères qui la différencient essentiellement des autres phosphatases contenues dans les tissus, dont le pH optimum est aux environs de 7, qui hydrolysent les glycéro-phosphates α et β , les éthers mono- et di-hexose-phosphorique, les pyro-phosphates, les nucléotides à base de guanine.

Mais ces caractères ne sont pas absolument spécifiques de la phosphatase de l'os. Kay a montré qu'il est possible d'extraire un enzyme absolument comparable, à partir du rein. Il a poursuivi longuement son étude et a montré que ses propriétés étaient superposables à celles de l'enzyme de Robison. Peut-être, d'après les courbes d'hydrolyse établies par Kay, la phosphatase du rein est-elle plus active que la phosphatase d'os.

L'existence de la phosphatase de l'os est donc indiscutable. Nous l'avons obtenue au laboratoire, non seulement sur des os de jeunes lapins, mais sur des os de lapins âgés de plus de six mois. Il est certain que, dans ces conditions, la phosphatase obtenue chez des lapins plus vieux, perdait beaucoup plus rapidement son activité. Après 4 jours, elle n'hydrolysait plus les solutions à 2,5 % de glycéro-phosphate β que nous utilisons pour contrôler son activité. Au contraire, les enzymes obtenus à partir d'os de jeunes lapins conservaient leur activité pendant 3, 4 et même 5 semaines.

L'ion Ca (sous forme de CaCl_2) ajouté en très petites

quantités aux solutions à hydrolyser, inhibe l'action de la phosphatase. Au contraire, l'ion Mg augmente spécifiquement le pouvoir hydrolytique de la phosphatase (Jenner et Kay). On trouve dans le cal des fractures expérimentales une phosphatase extrêmement active. Robison et Katharine Soames accordent aux faits que l'enzyme est plus actif à un pH sis entre 8,4 et 9,4 un très haut intérêt ; ils supposent que les ostéoblastes sécrétieurs de l'enzyme ont le pouvoir d'augmenter le pH des tissus, ce qui amène une augmentation d'ions PO_4^{4-} . L'enzyme est d'autant plus actif que son pH est plus élevé. L'élévation locale du pH provoquera donc une suractivation du ferment, une surproduction d'ion PO_4^{4-} et, par suite, une augmentation de la calcification. Le magnésium et les chlorures ne se trouveraient dans l'os que parce qu'ils ont été adsorbés.

Robison et Soames ont essayé de donner une preuve expérimentale de ces phénomènes en tentant de vérifier la réaction alcaline du cartilage en voie d'ossification. Ils injectèrent du bleu de thymol, du rouge de phénol et d'autres indicateurs colorés, dans le cœur d'un jeune rat. Mais ils ne décelèrent pas ces colorants au niveau de la zone en voie d'ossification ; seuls, les muscles environnants sont un peu colorés. D'autre part, ils constatèrent que des extraits d'os, après un séjour à la température de 37° , présentaient fréquemment un pH de 8,4 environ, faits pouvant être dus à la redissolution des sels inorganiques.

Enfin, ils ont pu provoquer un dépôt de phosphate tricalcique sur des os de rats rachitiques, plongés dans des solutions d'hexose-phosphate et de glycéro-phosphate au pH de 7,4 et de 8,4.

Rôle de la phosphatase de Robison dans l'ossification.

Martland et Robison, en 1924, confirmant le premier travail de Robison, ont établi une corrélation entre l'apparition de la phosphatase dans l'os et l'apparition du processus d'ossification. Ils recherchèrent l'enzyme dans des cartilages sans aucun signe d'ossification, et dans des cartilages en voie d'ossification. L'enzyme est toujours absent dans le premier cas, toujours présent dans le second. Dans des os de membrane, comme le pariétal, ils trouvèrent toujours la phosphatase. Elle apparaît dès le premier point d'ossification de l'os, c'est-à-dire dans les deux premiers mois de la vie intra-utérine. Mais la formation de l'os procède avec une telle rapidité, que la plus grande partie des os longs, s'ossifient en quelques semaines et contiennent de la phosphatase.

Ces données qui reposent sur un grand nombre d'expériences tendent à affirmer la corrélation entre l'apparition de l'enzyme et l'ossification. La phosphatase serait sécrétée par les cellules cartilagineuses hypertrophiques et les ostéoblastes. De là, elle pourrait diffuser plus ou moins dans la substance fondamentale.

Cependant, Bodansky, Ruth Morrice Bakwin et Harry Bakwin, étudiant la distribution de la phosphatase dans les tissus des téléostéens, des élasmobranches et d'autres poissons, rapportent que la présence de l'enzyme dans le squelette de ces poissons ne semble pas être en rapport avec le degré d'ossification. Ces faits sembleraient infirmer les précédents. Mais ce n'est pas seulement dans

les tissus jeunes, en voie d'ossification, que l'on rencontre de la phosphatase.

Shipley, Kramer et Howeland s'opposent à ces assertions. La calcification se produirait *in vivo* comme *in vitro*. Or, *in vitro*, ils ont constaté que les os de rats rachitiques fixaient du calcium lorsqu'ils étaient mis en présence d'une solution de sel de calcium et de phosphate analogue à celle du sang. De même, ces os rachitiques placés dans du sérum frais fixaient du calcium. Ils constatèrent également que les poisons protoplasmiques, l'addition d'albumine d'œuf, la chaleur, le froid, inhibaient complètement ou partiellement la calcification. Ils conclurent : « Il est impossible d'avancer aucune théorie pour expliquer le dépôt électif des sels de calcium. Il est clair que le processus n'est pas une simple précipitation, il dépend de l'activité du tissu vivant », mais ils réfutent les idées de Robison et ne veulent pas admettre le rôle de la phosphatase. Dans une réponse très brillante, Robison réplique à ces auteurs. Dans la critique qu'ils lui ont adressée, ils n'ont pas tenu compte de tous les éléments du problème ; souvent ils ont déformé ses idées. De plus, il montre que certains résultats obtenus par Shipley sont conformes à ses assertions.

Il est naturel de constater une calcification du tissu ostéoïde, puisque le sérum contient un éther hexose monophosphate (Goodwin et Robison), que la phosphatase d'os hydrolyse (Kay et Robison).

Dans les solutions artificielles, Shipley n'a considéré que le calcium total ; or, dans la calcification, ce sont les ions Ca^{++} et $\text{PO}_4^{=}$ qui interviennent : si on se reporte aux expériences de l'auteur, on constate que ces solutions étaient sursaturées en ions $\text{PO}_4^{=}$ et Ca^{++} .

Enfin, ce n'est pas une raison suffisante de poser que le pH du sang étant de 7 dans les territoires en voie d'ossification, la phosphatase de Robison ayant un pH de 9, ne peut intervenir. On ne connaît pas les modifications que peuvent subir les différents éléments biologiques *in vivo*.

Telles sont les notions fondamentales, connues, en ce qui concerne le rôle des phosphatases dans l'ossification. Le ferment est indéniable, rien ne s'oppose à ce qu'il modifie les conditions de sursaturation de la lymphe interstitielle qui baigne les tissus en voie d'ossification. Mais il faut admettre que dans la théorie de Robison, il existe bien des hypothèses : sur le rôle des ostéoblastes, sur le pH du milieu, etc..., qu'aucun fait n'a encore vérifié. Les travaux les plus récents de Robison et Soames (1932, 1933), n'ont pas apporté de faits plus précis. Cependant, ces auteurs sont amenés à reconnaître que d'autres facteurs que l'éther hexose monophosphorique interviennent dans la calcification ; par exemple : les sucres, l'acide lactique.

Les phosphatases peuvent jouer un rôle également dans les modifications calciques locales (mutations calciques locales de MM. Leriche et Policard). Mais on ne voit pas, actuellement, avec les données connues expérimentalement le mode d'action de ces enzymes d'une façon rigoureuse. Il s'agit là d'hypothèses qui demandent de sérieuses mises au point.

CHAPITRE II

La Calcémie

Le calcium sérique doit être envisagé comme formé de plusieurs fractions :

- 1° Une fraction liée aux protéïdes.*
- 2° Une fraction formant avec des substances organiques un complexe non ionisé.*
- 3° Une fraction ionisée.*

Si l'on calcule le p (produit ionique) du sérum, on trouve un chiffre tel qu'une précipitation de phosphate de calcium devrait avoir lieu au niveau même du sang. En fait, il n'en est rien. C'est donc que le taux de calcium total que l'on utilise pour ce calcul représente une valeur trop forte.

Une partie du calcium lié aux protéïnes, la totalité du calcium du complexe diffusible mais non ionisé ne

devrait pas entrer dans ce calcul pour lequel seuls doivent compter les ions Ca^{++} . Nous ne pouvons pas apprécier la valeur exacte de cette fraction. Force nous est d'utiliser le calcium total. Dès lors, nous ne connaissons pas le p (produit ionique) réel du sérum pour les phosphates de calcium. Néanmoins, les chiffres trouvés conservent toute leur valeur relative. Ils nous permettent des comparaisons entre le sérum normal et les sérums pathologiques. Toute augmentation du p (produit ionique) montre une tendance à la décalcification. Tout abaissement montre une tendance à la calcification.

Le taux du calcium qui sert à ces calculs est donc le calcium total. Pour que la comparaison soit possible, il faut que le rapport $\text{Ca total} - \text{Ca utilisable}$ soit constant. Les anomalies importantes des protéides du sérum qui fixent une partie du calcium non utilisable pourraient créer des erreurs. Leur traduction clinique attire l'attention, un dosage lève le doute.

Le p (produit ionique) du sérum permet donc de suivre son comportement vis-à-vis de la précipitation ou de la solubilisation des sels de chaux.

L'étude du comportement du calcium au niveau du sang comporte trois questions principales :

- 1° Comment se répartit le calcium sanguin ?
- 2° Quels sont les facteurs de la solubilité du calcium au niveau du sérum.
- 3° Quels sont les principaux facteurs de la calcémie normale.

Il convient cependant d'étudier au préalable deux points importants pour la pratique.

1°) *Etude du calcium globulaire.*

Si, à la suite d'Abderhalden qui dès 1911 affirmait que les globules ne contenaient pas de Ca, plusieurs auteurs ont repris cette affirmation, Mariott et Howland, Richter-Quittner, Janson et plus récemment encore Leiboff ont soutenu que les hématies ne contenaient pas de Ca. En réalité, il semble que l'on doive admettre avec Guillaumin que les globules rouges contiennent 25 à 35 mgr. de Ca par litre. Nous n'insisterons pas plus longuement sur ce point.

2°) *Comparaison du calcium sérique
et du calcium plasmatique.*

Pratiquement, d'après Mazzoco, Halverson, Mohler et Bergeim, enfin plus récemment Weil et Guillaumin : Ca plasmatique = Ca sérique. En effet la quantité de Ca qui intervient dans la coagulation (Stewart et Percival) est négligeable.

La calcémie totale est de 0,900 ‰ à 0,110 ‰ chez l'homme, d'après la technique de Hirth ; c'est celle que nous avons appliquée dans nos dosages.

I. — COMMENT SE RÉPARTIT LE CALCIUM SÉRIQUE ?

Une fraction n'est pas dialysable. La plupart des auteurs pensent qu'il s'agit du calcium lié aux protéines du sérum.

D'autres pensent que cette fraction protéidique ne représente pas la totalité du calcium non dialysable : une part se trouverait à l'état colloïdal.

Une fraction est dialysable. Elle se répartit elle-même en 2 groupes : une partie adsorbable constituée probablement par un complexe calcique — une portion non adsorbable simplement formée par des ions.

1°) Etude de la portion liée aux protéides.

a) La réalité de l'existence d'une portion protéino-calcique au niveau du sérum est montrée par les expériences suivantes dont les résultats sont concordants :

— *Dialyse de compensation de Rona et Takahashi.*

— *Mesure d'électro-conductibilité* sur les électro-dialysats du plasma (Mond et Netter ; Bernhard et Netter).

— *Vividiffusion* (Abel, Cuschny)

— *Ultrafiltration* (Bechold, Malfitano, Greenberg, Hirth, Guillaumin). Guillaumin a étudié en détail, (1932), les diverses

méthodes d'ultrafiltration. L'ultrafiltration peut s'opérer sous diverses pressions : avec des ultrafiltres très différents (se reporter à Guillaumin).

— L. Brüll a perfectionné cette technique. Son procédé ingénieux de viviultrafiltration donne des résultats constants.

On considère que 30 ou 40 % du calcium plasmatique sont liés aux protéines.

b) La nature du mode de liaison peut être discutée :

Les protéines du sérum sont des corps amphotères placés au niveau du sérum du côté alcalin de leur pH isoélectrique, elles se comportent donc naturellement comme des acides. Elles doivent donc fixer du calcium en formant des protéinates calciques. Rome et Petow ont en effet montré que le calcium non ultrafiltrable du sérum varie avec le pH, tout comme s'il s'agissait d'un calcium fixé sous forme de protéinate. Löeb, par des expériences de dialyse prolongée, a mis en évidence la formation de protéinate.

Cette liaison stoechiométrique n'est peut-être pas la seule que le calcium contracte avec les protéines du sérum. Eversole, Ford et Thomas ont montré, il y a quelques mois seulement, que si l'on établit un système du type Donnan avec d'un côté de la gélatine et du chlorure de calcium et de l'autre côté du chlorure de calcium seul, il y a, après que l'équilibre s'est établi, plus de calcium du côté de la gélatine que n'en prévoit la théorie de Donnan. La quantité supplémentaire croît avec la quantité de gélatine. Il faut donc supposer qu'il existe une fraction de calcium non ionisé, peut-être adsorbée. Ce calcium non ionisé représente 3 à 17 % de

la quantité totale de calcium pour des taux de gélatine qui varient de 5 à 40 ‰. Si l'on suppose le même pouvoir aux protéines sériques, il faudrait admettre que la quantité de calcium non ionisé est de 34 % de la portion fixée par les protéides.

c) On voit mal, puisque l'équation de Donnan n'est pas probablement strictement applicable, comment une équation théorique pourrait être établie pour calculer le calcium protéidique. Par contre, l'établissement d'une équation empirique reste toujours possible.

Par des expériences de dialyse du sérum contre des liquides de même pouvoir ionique mais ne contenant pas de protéides, Hastings, Murray et Sendroy (1926) ont pu calculer la quantité de calcium fixé par les protéides. Chaque gramme de protéide sérique fixe :

0,0163 millimol. de calcium à pH : 7,67,

0,0145 millimol. de calcium à pH : 7,48.

Par extrapolation, on a : 0,0137 millimol. de calcium fixé à pH : 7,4.

D'autre part, en réalisant la courbe des variations de la teneur en calcium de divers liquides biologiques en fonction de leur teneur en protéide, ces mêmes auteurs obtiennent une droite dont la formule est :

$$(\text{Ca}) = 0,014 \text{ protéides} - 1,4.$$

Ca étant mesuré en millimol. % et les protéides calculées en grammes %, la valeur de Ca (protéidique) est donc de 0,014 grammes protéides, valeur donnée en millimol.

En poids, elle est donnée par la formule :

Ca (protéidique) en milligr. = 0,56 protéides en gr.

Peters et Eiserson arrivent à une formule très voisine après examen de 118 cas personnels :

Ca (protéidique) en milligr. = 0,556 protéides en gr.

Cette formule n'a cependant pas été constamment retrouvée.

2°) Etude du calcium colloïdal.

Existe-t-il une portion calcique sous la forme de phosphate tricalcique colloïdal dans le sérum. L'existence d'une telle phase est admise dans le lait. Peut-elle l'être aussi dans le sérum ? La réponse des auteurs est très variable :

On considère, en général, que toute la fraction non dialysable du Ca est liée aux protéines ; cependant, Eicholz et Starling, en 1925, à la suite de leurs expériences sur le rein nourri par la préparation cardio-pulmonaire, émirent l'hypothèse que, normalement, les phosphates du plasma seraient à l'état de phosphates calciques colloïdaux.

L. Brull, de son côté, par sa méthode de vivi-ultra-filtration, ainsi que par la perfusion combinée d'un rein et d'un ultra-filtre par des circuits cardio-pulmonaires, a montré :

1°) Que, normalement, il n'existe pas dans le plasma de phosphate tricalcique colloïdal.

2°) Que l'on peut provoquer sa formation en élevant le produit $\text{Ca} \times \text{P}$ par addition de phosphate sodique qui se combine au Ca préexistant, ou de Ca et de phosphate sodique qui se combinent entre eux.

Scholtz, plus récemment, a de nouveau insisté sur la présence de ce complexe colloïdal de phosphate calcique. Toutefois, la majorité des auteurs négligent cette forme, et, n'ayant pas de données personnelles à ce sujet, nous admettrons avec Brull : « Il reste acquis comme premier point que, premièrement, 30 à 40 % de Ca plasmatique se trouve à l'état colloïdal ; que la proportion de ce Ca colloïdal est facteur de la teneur en protéines ».

3°) Etude du complexe calcique diffusible non ionisable.

a) KLINKE, le premier, a mis en évidence et a séparé cette forme diffusible non ionisée en l'adsorbant sur du sulfate de baryte et du phosphate tricalcique. Benjamin et Hess, perfectionnant cette technique d'adsorption, obtiennent des chutes de calcium diffusible non ionisé, assez constant.

Leur méthode est la suivante : sur l'ultrafiltrat du sérum, ils font agir une solution de sulfate de baryum à 40 % et brassent avec un agitateur mécanique, le tout pendant 2 heures. Après centrifugation, ils dosent par une méthode classique, le calcium resté en solution.

De 30 à 50 mgr. pour 1000 se trouvent sous la forme absorbable par le sulfate de baryte.

b) Ce complexe semble négativement chargé puisqu'il est bien adsorbé par le sulfate de baryte (adsorbant positif) et qu'il n'est pas adsorbé par le kaolin (adsorbant négatif) (Klinke). Cependant, il est adsorbé par l'hydroxyde d'aluminium (adsorbant négatif).

c) Sa nature chimique est très discutée :

Scheär et Kramer ont montré que le calcium est un ion qui peut contracter des liaisons spéciales avec l'acide citrique. En effet, si l'on établit la courbe de conductivité d'une solution de NaCl, celle-ci ne varie pas lorsqu'on ajoute du citrate de soude. Au contraire, la courbe établie pour une solution de CaCl_2 varie beaucoup lorsqu'on ajoute du citrate de soude. La résistance observée, au lieu de descendre comme elle le devrait si rien n'était changé, monte à un maximum. Ils en concluent à l'existence d'un complexe qui change les conditions d'ionisation.

Sendroy et Hastings pensaient à l'existence d'un complexe diffusible de citrate de calcium.

Cependant Benjamin et Hess ont montré que l'addition de citrate diminue le calcium adsorbé du sérum.

La plupart des biochimistes admettent plutôt qu'il s'agit d'un complexe du type :

$(\text{R}^2\text{Ca})^n \text{PO}^4\text{H}\text{Ca}$ ionisé sous la forme :



dans lequel R est un acide faible.

Greenberg, tout récemment, a insisté sur le fait que l'acide citrique n'entre pas dans le complexe, et critiqué vivement les auteurs qui avaient affirmé ce fait.

**4°) Enfin une portion simplement ionisée,
donc ultrafiltrable et non adsorbable.**

On s'est efforcé d'évaluer expérimentalement l'ionisation du calcium plasmatique. Les méthodes utilisées sont inspirées du même principe que celles auxquelles on a recours pour l'ion H : méthode électrométrique (Neuhausen et Marshall, Corten et Estermann); méthode colorimétrique (Haffner et Simon). Ces méthodes sont à l'étude. Une autre méthode, basée sur la connaissance du produit de solubilité de l'ion oxalique et du calcium, paraît plus applicable (Brinkman et Van Dam) ; elle prête à des réserves (Mond et Netter). Les résultats de ces différentes méthodes tendent à confirmer le taux de 20 à 30 mgr. pour 1000 cm³ de plasma. Nous allons voir que l'étude de l'ionisation (Holt, La Mer et Chown, etc.) du plasma confirme ces données.

II. — QUELS SONT LES FACTEURS DE LA SOLUBILITÉ DU CALCIUM AU NIVEAU DU SÉRUM

1° Une première notion est à dégager : les globules rouges ne jouent probablement aucun rôle dans la solubilité du calcium du sang. In vitro, Sendroy et Hastings (1926) ont montré que les constantes de dissolution étaient les mêmes en présence ou en l'absence de globules rouges.

2° Le calcium du sérum est en quantité telle qu'il devrait spontanément précipiter.

La formule de Holt indique pour le sérum un p_{Ksp} de 26 et son p (produit ionique) chez l'homme normal est de 24 environ.

La formule de Sendroy et Hastings donne pour le sérum un p_{Ksp} de 24,7 et un p (produit ionique) de 22,5 environ.

Dans l'un et l'autre cas, des précipitations devraient se produire.

3° En fait, elles ne se produisent pas. Pour expliquer cette anomalie, diverses hypothèses ont été émises :

La sursaturation du sérum a d'abord été invoquée. Elle est possible, elle est peu probable. Des expériences de Sendroy et Hastings (1926) tendent à éliminer cette hypothèse.

Il est plus probable que l'erreur provienne du fait

que nous calculons le p (produit ionique) au moyen de la calcémie totale. Celle-ci comporte une part de calcium non ionisé qui ne doit pas être comptée. ,

4° Au point de vue pratique, nous pouvons en retenir que le chiffre que nous calculons pour le p (produit ionique) n'a pas de valeur absolue. Par contre, l'erreur introduite dans son calcul étant à peu près toujours la même, il garde toute sa valeur relative et peut servir de terme de comparaison entre deux sérums pour caractériser leur tendance à la précipitation. Toute augmentation du p (produit ionique) marque une tendance à la solubilisation du calcium. Tout abaissement du p (produit ionique) montre une tendance à la précipitation.

III. — LES FACTEURS DE LA CALCÉMIE NORMALE

Le taux de la calcémie est relativement fixe. Aux différentes périodes de la vie chez la femme, chez l'homme, chez l'adulte, chez le vieillard, comme chez l'enfant, ce taux varie entre 90 et 110 mgr. ; des dosages de calcium pratiqués chez un même individu à quelques jours de distance se sont révélés sensiblement identiques. Nous avons pratiqué des dosages chez le lapin, chez le cheval, chez le cobaye et de même que les précédents chercheurs (Parhon, Mazzocco et Derivicci), nous avons trouvé un taux voisin de celui de l'homme. Cependant, il faut signaler qu'il existe chez certains animaux, comme le rat, des variations saisonnières du taux du Ca

sérique, ainsi que l'ont montré Cameron, Williamson, Howland et Kramer, Hess et Lundagen, György, et plus récemment Dupré et Eugénia, Semeonoff. Ceci dit, il est intéressant d'étudier quels sont les facteurs qui, chez l'homme normal, entretiennent le taux constant de la calcémie : les ingesta, les excréta, qui permettent d'établir le bilan calcique. Nous envisagerons ensuite les apports de Ca à la suite d'injections intra-veineuses et les modifications qui peuvent survenir dans la calcémie après fracture. Enfin, différents petits points seront à élucider, comme la variation du taux de la calcémie avec la respiration, le repos prolongé au lit, les hémorragies répétées et la saignée.

A) Les ingesta.

Le Ca est absorbé par l'intestin. Cette absorption est favorisée par l'acidité du contenu intestinal. Non seulement l'individu absorbe le calcium sous forme de combinaisons organiques, mais encore sous forme de calcium minéral. Klinke a attiré l'attention sur le fait que les sels biliaries forment avec les savons calcaires des complexes diffusibles absorbables, et suggère que c'est là le mécanisme d'absorption à la fois du calcium et de la graisse.

Les besoins de l'organisme en calcium sont considérables ; d'après Masson, Albu et Neuberg, l'adulte a besoin approximativement de 0 gr. 40 de calcium par jour, de 0,45 d'après Scherman. Lorsque la ration alimentaire est pauvre en calcium, l'ostéoporose s'en suit,

l'individu est en état de déséquilibre calcique. Mais la mesure de la calcémie permet-elle de reconnaître que le régime est imparfaitement équilibré ?

a) *Régimes carencés en minéraux.*

Denis et Minot ont montré qu'en règle générale le calcium de la ration ne détermine aucun accroissement sensible du calcium sanguin, sauf lorsque la concentration primitive de celui-ci est faible. Au cours même de l'inanition, la calcémie n'est pas ou peu modifiée. De même, contrairement aux conclusions de Meglitsky, Morgulius et Perley ne trouvent pas d'augmentation du calcium sanguin chez le chat laissé à un jeûne prolongé. Selon Matavuluj et Chahovitch, au bout de 24 heures de jeûne, la calcémie reste normale chez les animaux. Le manque de calcium dans la ration journalière n'amène donc pas de modifications de la calcémie. Il n'en est pas de même lorsqu'un régime carencé est donné pendant longtemps. Les travaux de Mac Callum et ses élèves, de Mouriquand et Leulier, mettent en évidence le rôle de la teneur en calcium et en phosphore de la ration journalière dans la production du rachitisme expérimental ; la calcémie et la phosphorémie sont alors très abaissées. Nous n'insistons pas sur ces travaux très connus.

b) *Influence des repas en régime normal.*

Ssewerin, sur le lapin, remarque que les taux de la calcémie sont identiques après un repas de choux ou avant. Si Culhane note chez ces animaux une élévation de la calcémie sérique de 11 à 15 mgr. dans les 2 à 4 h.

qui suivent un repas de choux, Kapsimond et Hunderhill obtiennent des différences trop vagues pour confirmer les conclusions de Culhane. Selon Lasch et Neumayer, il y aurait cependant des variations appréciables entre la trentième et la soixantième minute après l'absorption.

Aussi, en pratique, vaut-il mieux prélever le sang pour calcémie à jeun.

c) *Régimes hypercalcifiants.*

De même qu'une alimentation insuffisante, un régime hypercalcifiant ne trouble que très peu la calcémie. Le calcium absorbé se fixe dans les tissus.

1) *Les sels solubles.* Des quantités variant de 1 à 1 gr. 5, sous forme de sels solubles de calcium, déterminent un accroissement temporaire de la calcémie ; cet accroissement atteint son maximum en 2 ou 3 heures chez les sujets en croissance (Blanchetière). Mais pour provoquer nettement une élévation de la calcémie, il faut administrer de fortes doses de Ca. En faisant ingérer 6 gr. de lactate de calcium, Denis et Minot n'ont pu élever la calcémie. Harkenstein, après une administration quotidienne et prolongée de 10 gr. de calcium, n'a pu constater qu'une augmentation légère de la calcémie. Selon Fraser, pour obtenir une augmentation passagère de 1 à 2 mgr., il faut des doses quotidiennes de 5 à 10 mgr. de sels de calcium per os. L'anion fixé intervient dans l'efficacité du sel ; l'ordre croissant de celle-ci étant « biphosphate - sulfate - chlorure - bicarbonate », l'efficacité du lactate est très restreinte (Blanchetière), quoique Roe et Kahan observent chez l'hom-

me à jeun, après absorption de 5 gr. de lactate de calcium, une élévation de la calcémie de 50 à 100 %. Celle-ci atteindrait son maximum après 4 à 8 heures. L'acétate a très peu d'efficacité.

2) *Les sels insolubles.* Même quand ils sont administrés à doses prolongées selon Dorlencourt, ils n'auraient aucune action sur la calcémie ; cependant ils sont résorbables si le contenu intestinal est acide.

En résumé, les apports alimentaires n'ont qu'un rôle minime dans la régulation du taux de la calcémie.

Cependant, il est un corps auquel il faut faire une place à part, c'est : *l'acide phosphorique*. Modifiant l'équilibre ionique du sérum, son absorption provoque d'une part une excrétion notable de calcium, d'autre part une grosse précipitation de calcium dans les os : *la calcémie s'abaisse*. De même, l'absence de P dans le régime provoque une perte de calcium osseux, qui passe dans les excréta. Il s'en suit une déminéralisation avec abaissement du taux de la calcémie et de la phosphatémie.

B) Les excréta.

Le calcium s'élimine par les fèces et par l'urine, et très accessoirement en très faible quantité par la sueur (0,2 % de phosphate de calcium, d'après Erich Hernack). L'excrétion du calcium n'est pas parallèle à son absorption, une partie du calcium ingéré allant se fixer dans le tissu osseux ; la part relative de l'excrétion intestinale et urinaire varie avec la nature de l'alimentation, l'acidité intestinale.

1) *Elimination par les fèces.*

Elle relève d'une *triple origine* :

a) Le calcium alimentaire résiduel : plus un régime est riche en chaux, plus l'intestin rejette de calcium.

b) Le calcium excrété par la muqueuse intestinale (0 mgr. 2 par kilo et par heure au niveau du colon, chez le chat, d'après Stewart).

c) Le calcium des différents sucs digestifs.

Elle varie avec :

a) la quantité de calcium absorbé — b) sa qualité —
c) la masse de la nourriture (Manoussakis).

d) L'excrétion intestinale est en étroite relation avec l'équilibre acido-basique de l'intestin. Par suite de l'alcalinité du suc intestinal, une partie importante du calcium ingéré passe sous une forme insoluble (phosphates tribasiques, carbonates, savons). Or, deux causes règlent l'équilibre acido-basique de l'intestin :

a) Les apports alimentaires : Edward et Masson, G. Bertrand, Manoussakis ont observé que toute ration génératrice d'acide augmentait le débit calcique des fèces par rapport au débit urinaire ; toute ration génératrice de bases la faisait diminuer.

b) Les fermentations intestinales (lactiques, putrides).

2) *Elimination urinaire.*

Cuschny donne comme chiffre de Calcium éliminé par les urines 15 mgr. pour 100 cm³. Pour avoir une appréciation exacte et éviter les décharges phosphaturiques post prandiales, il vaut mieux faire les recherches

sur les urines d'une journée tout entière. Nous avons pratiqué ces recherches sur différents sujets, le rein éliminait de 90 à 180 mgr. en 24 heures; chez les mêmes individus, nous trouvions un taux de la calcémie entre 90 et 110 mgr., on ne pouvait noter aucun rapport entre le taux de l'élimination urinaire et le taux de la calcémie. Or, Brull a montré que :

— pas plus la hausse que la baisse du calcium ionisé ou du calcium colloïdal du plasma ne sont accompagnées de variations de son débit urinaire ;

— la part du calcium qui est éliminé par le rein est la part biologiquement inutilisable; c'est le complexe diffusible non ionisé.

3) *Intégrité des émonctoires et calcémie.*

Normalement, par suite des éliminations journalières, malgré la quantité variable des apports, la calcémie reste constante, mais quand un trouble survient du côté de l'un des émonctoires, la calcémie peut varier.

a) De l'hypocalcémie a été notée dans l'insuffisance rénale au début (Zondek, Peton et Seibert), dans les néphrites (Horowitz et Rabinowitsch).

b) Tschiember, Loeper et Lemaire ont signalé l'hypocalcémie des entéritiques. Cette hypocalcémie est surtout marquée dans les entérites des tuberculeux (Looft, Blum).

Connaissant la quantité de calcium ingérée et la quantité excrétée, il est possible d'établir des bilans calciques. Plusieurs auteurs ont cherché dans cette étude des bilans un élément d'appréciation clinique des

troubles du métabolisme du calcium (Manoussakīs, Langeron, Paget et Cordonnier). Ils indiquent la déperdition calcique, mais leur utilisation en clinique est rendue difficile par des raisons d'ordre pratique ; d'autre part, ils n'indiquent pas le sens de cette déperdition calcique.

C) Les apports directs de calcium dans l'organisme.

1) *Les injections intra-veineuses.*

Elles n'ont qu'un effet tout passager. Weil et Guillaumin rapportent les faits suivants (in cong Fr. med. Liège, 1930, 2^e rapport p. 115) : « Si, comme l'a montré Clark, l'injection intra-veineuse ou sous-cutanée de sels de calcium provoque une augmentation de la calcémie, celle-ci n'est que passagère, elle disparaît en 10 minutes si le sel injecté est l'hypophosphite de chaux, en moins d'une demi-heure s'il s'agit de chlorures, formiates ou lactates (Siburg et Kessler). Les choses se passent de même lorsque le chlorure, le formiate ou le lactate sont introduits dans la circulation concurremment avec de la gélatine. Par contre, la durée du séjour dans le sérum des ions calciques en excès est augmentée de 25 % si le chlorure, le formiate ou le lactate sont injectés en même temps que la gomme arabique. Avec l'hypophosphite de chaux, le résultat reste le même après apport concomitant de gélatine ; mais là encore, la gomme arabique prolonge l'action des ions en excès ».

Trois heures après une injection intraveineuse, selon

Dadlez, 50 % du calcium est éliminé par l'urine, le reste disparaît du sang et serait déposé dans les os, le cervelet, mais momentanément seulement, car 6 heures après, on trouve encore dans l'urine une quantité de calcium supérieure à la normale ; l'élimination complète, par les voies urinaire et intestinale, se fait en 24 heures.

Il existe deux corps qui ont la propriété de modifier le taux de la calcémie après injection :

1°) Le chlorure d'ammonium qui provoque une forte hypercalcémie retirant le calcium des os.

2°) L'acide phosphorique qui abaisse la calcémie totale (phosphates alcalins, Binger, Jeppson).

2) *Les fractures.*

La calcémie ne se modifie pas quand une fracture survient chez un adulte (Langeron, Paget, Cordonnier ; Bigwood). Mais il se produit une hyperphosphatémie, de la phosphatase apparaît au niveau de l'os et une hyperphosphatasémie. Il n'y a rien de très étonnant à ce que la calcémie ne subisse pas de variations puisque « les phénomènes calciques qui interviennent sont purement locaux » (Leriche).

Nous rapportons ici deux expériences faites sur des lapins chez lesquels nous avons pratiqué des fractures expérimentales.

a) Lapin D1 (5 mois 1/2).

7-9-34, Ca = 0,089 ‰ ; P = 0,034 ‰.

8-9-34, fracture de tous les métatarsiens des 2 pattes
de derrière ; plâtre.

10-9-34, P = 0,057 ‰.

13-9-34, Ca = 0,092 ‰ ; P = 0,056 ‰.

17-9-34, P = 0,061 ‰.

b) Lapin D2 (3 mois).

Avant fracture : P = 0,034 ‰.

Après fracture : Ca = 0,079 ‰.

: P = 0,057 ‰.

: p.(P.I.) = 24.

D) Facteurs accessoires.

— L'asphyxie provoque de l'hypercalcémie (hypercalcémie asphyxique de Blanchetierre).

— Le repos au lit augmente la calcémie : taux moyen 117 mgr. (Di Foutsin).

— Les hémorragies répétées abaissent la calcémie du lapin de 14 % (Hoyle).

— Après la saignée, on constate une augmentation progressive de la calcémie comme du taux du phosphore minéral du sang (Nitzescu et Runceanu).



CHAPITRE III

Les Régulateurs de la Calcification et de la Calcémie

Nous avons étudié le rôle de divers régulateurs sur la calcification et sur la calcémie.

1° Le rôle des hormones. — Les parathyroïdes jouent le rôle essentiel :

a) Si l'on suit, chez le lapin qui reçoit des doses croissantes d'extrait parathyroïdien, le développement des courbes de la calcémie et de la phosphatémie, on les voit s'écarter l'une de l'autre, car, au fur et à mesure que baisse la phosphatémie, croît la calcémie. Le rapport Ca/P va évoluer en croissant. Il traduit l'écartement des courbes.

b) Au niveau de l'os, la matière organique diminue. Les sels baissent aussi. Le calcium semble abandonné par l'os par suite de l'altération de son support organique. Il passe dans le sang, ce qui rend compte de l'hypercalcémie.

Plus difficile à comprendre est la baisse de la phosphatémie minérale. Nous pensons pouvoir l'expliquer ainsi : Toute molécule de phosphate tricalcique qui passe depuis l'os dans le sang entraîne pour trois atomes de calcium deux atomes de phosphore. Pour s'éliminer sous une forme soluble, ces trois molécules de calcium exigeront trois ions divalents (PO_4H^- , par exemple), soit, si ces ions sont des ions phosphates, trois atomes de phosphore. Il y a donc une déperdition importante de phosphore, d'où baisse de la phosphatémie. Il ne s'agit là bien entendu que d'une hypothèse.

D'autres hormones peuvent agir. Nos études portent surtout sur l'action des ovaires et du thymus.

2° Le rôle des vitamines. — L'ergostérol irradié administré à l'animal donne des phénomènes de nature très différente. Au fur et à mesure que se développe l'intoxication, la calcémie augmente comme dans l'hyperparathyroïdisme, mais la phosphorémie croît parallèlement, le p (produit ionique) est diminué et cette diminution s'accompagne d'une précipitation calcique très généralisée.

Des auteurs ont, par ailleurs, montré que chez l'animal carencé en vitamines D, le p (produit ionique) augmente.

En résumé, l'hyperparathyroïdisme expérimental comporte un trouble primitif au niveau de l'os, qui, par suite

de ses anomalies protéiques, abandonne son calcium. Les troubles sanguins sont secondaires. Ils constituent de simples témoins. Leur traduction est une augmentation du rapport Ca/P.

L'ergostérolisme expérimental comporte une altération primitive du p (produit ionique) du sérum. Les altérations sériques sont ici la cause des troubles de la calcification.

Nous avons envisagé jusqu'ici les éléments et les conditions physico-chimiques qui régissent la calcification et la calcémie, mais depuis longtemps, cliniciens et physiologistes ont mis en évidence le rôle de facteurs plus généreux : les hormones, les vitamines. De plus, tout acte physiologique nécessite l'intervention du système nerveux. Si, dans ces phénomènes, son rôle n'a été que peu mis en évidence jusqu'à présent, nous n'aurions garde cependant de l'oublier comme nous le verrons par la suite, son rôle n'est pas négligeable. Récemment dans sa thèse, Henry a abordé les relations si souvent négligées entre les parathyroïdes et le sympathique.

A) LES RÉGULATEURS BIOLOGIQUES GÉNÉRAUX

Ce sont les hormones et les vitamines ; si parfois leur intervention nous offre une certaine analogie, il ne faut pas cependant en induire que leur mécanisme d'action est identique, ainsi que certains l'ont fait trop souvent. Nous étudierons successivement leur rôle et mettrons en évidence les conséquences de leur action simultanée.

I. — LES HORMONES

Parmi les glandes à sécrétion interne, il en est une à qui l'on attribue à juste titre un rôle de premier plan dans les phénomènes de calcification et sur la régulation de la calcémie : la Parathyroïde. Il en est d'autres dont le rôle n'est que de second plan : ovaires, thymus, corps thyroïde. Quant aux autres, leur rôle est insignifiant.

Influence des parathyroïdes.

Ces glandes découvertes par Sangström en 1880, bien individualisées physiologiquement par Gley, Moussu, Vassale, Edmunds, Doyon et Jouty, etc...,

jouent un rôle capital dans les phénomènes que nous étudions.

Au premier chef, elles sont le régulateur physiologique normal de la calcémie et de la calcification.

Il convient d'étudier leur action par manque et par excès.

1°) HYPOPARATHYROIDISME.

Envisageons successivement leur action :

A) *Sur la calcification.*

En 1906, Erdheim obtient des altérations dentaires chez le rat, après parathyroïdectomie : lorsque l'intervention est suivie d'une survie prolongée, 6 à 10 semaines après apparaissent sur la face antérieure des incisives, des îlots opaques, blanchâtres, formant un croissant étendu de la base à la pointe de la dent. Celle-ci peut se briser au niveau de la tache. Etudiant ensuite l'état des parathyroïdes chez le rat spontanément rachitique, il relève des modifications histologiques des parathyroïdes qu'il interprète comme la traduction d'un hyperfonctionnement réactionnel, destiné à enrayer ou à guérir la lésion osseuse.

Puis, à la suite d'observations cliniques et expérimentales nombreuses, il conclut avec Strada, au rôle certain des parathyroïdes, dans le rachitisme, dans l'ostéomalacie, sans toutefois considérer que dans ces affections, le trouble primordial soit une déficience parathyroïdienne.

Canal en 1909, Morel en 1910 affirment une relation « entre l'ostéogénèse et la fonction parathyroïdienne ». Harvier expérimentant sur le chat et le lapin, Morel sur les chiens, signale un retard de la croissance, une décalcification osseuse ; la moëlle prend un aspect folliculaire ; les fractures se consolident très tardivement. Cependant, ces résultats ne sont obtenus que sur l'animal jeune ; l'animal adulte ne présente aucun trouble osseux.

Les travaux récents confirment ces données. Hammet et Schelling ont montré que le pourcentage des cendres des rats parathyroïdectomisés était beaucoup moins élevé que celui des témoins. Sans qu'il n'y ait aucun changement dans le taux de la matière organique. Berliner, Hess, Weinstock donnent des résultats semblables. Toutefois, Ascher et Jones concluent de leurs expériences : « des rats parathyroïdectomisés à l'âge de 50 ou 75 jours, nourris au régime standard de Steinböck, sans le supplément de lait, n'ont montré aucun changement dans la teneur en eau, lipides ou cendres de leur fémur ou de leur humérus jusqu'à l'âge de 150 jours ».

D'autre part, Balbring a cherché les effets de la parathyroïdectomie sur les tissus et les os du rat. Il conclut que la parathyroïdectomie augmente le taux du calcium et du phosphore contenu dans le corps.

B) *Sur la calcémie.*

Dès 1909, Mac Callum et Voetglin notent la chute de la calcémie après parathyroïdectomie ; depuis, tous les auteurs ont constaté le fait. Cet abaissement peut

aller jusqu'à 30 ou 35 mgr. pour 1000 cm³. Cette baisse du taux calcique est accompagnée d'une montée très nette du taux du phosphore (Salvesen, Greenwald).

Nous n'insisterons pas sur les conséquences cliniques de cette chute du taux calcique. On sait qu'après ablation des parathyroïdes, on constate la tétanie. Que la tétanie soit consécutive à l'ablation des parathyroïdes ; c'est là un fait certain. Mais il est impossible d'affirmer que la cause immédiate des crises tétaniques soit l'hypocalcémie. Nombreux sont les auteurs qui ne se contentent pas de la théorie calcique de la tétanie. Lesné, Dubois et Simmonet, à la suite d'une série de parathyroïdectomies sur le lapin, considèrent qu'il est impossible d'établir un rapport direct entre le taux de la calcémie et l'apparition des accidents. Des constatations semblables ont été faites par la tétanie chirurgicale post-opératoire (Welti).

Personnellement, nous relatons une observation qui illustre fort bien ces assertions.

Parathyroïdectomie accidentelle au cours d'une thyroïdectomie. Le soir de l'intervention, le malade présentait quelques secousses tétaniformes qui bientôt devinrent de véritables spasmes.

Prise de sang au début de la crise, avant toute médication thérapeutique :

$$\text{Ca} = 0,076/1000. \text{ P} = 0,033/1000. \text{ p(PI)} = 22,58.$$

$$\text{Ca/P} = 2,3.$$

2°) HYPERPARATHYROÏDISME EXPÉRIMENTAL.

Historique. Si Erdheim établit le premier les rapports entre les parathyroïdes et le squelette, cet auteur fit par contre l'erreur d'attribuer indistinctement le rachitisme, l'ostéomalacie et l'ostéite fibro-kystique de Recklinghausen, au même syndrome d'hypoparathyroïdisme. Cette erreur se retrouve dans les travaux ultérieurs jusqu'en 1925. C'est alors que Mandl fut amené à mettre en cause dans un cas d'ostéite fibro-kystique, l'hyperparathyroïdisme.

Se basant sur les notions antérieures pour remédier aux accidents, il eut recours à la greffe parathyroïdienne et fut étonné de les voir s'aggraver. Quoiqu'il n'y eut aucun symptôme d'altération des parathyroïdes, il n'hésita pas à les explorer et trouva un adénome parathyroïdien en voie de transformation maligne.

Dès lors, était née la notion d'hyperparathyroïdisme. C'est en cette même année que Collip découvrait et préparait à partir de parathyroïde de bœuf un extrait très actif : la parathyrine ou parathormone. Dès lors, on put étudier expérimentalement : l'hyperparathyroïdisme, la parathormone qui se définit physiologiquement par l'augmentation du calcium sérique, son action fondamentale sur le squelette.

La parathormone. Avant que Collip obtienne un extrait très actif, Berkeley et Beebe en 1907, Mac Callum et Vogel en 1913, Hanson en 1923, avaient obtenu des préparations dont l'injection améliorait la tétanie parathyréoprive.

Préparation de l'extrait Collip.

Des parathyroïdes de bœuf sont soumises à chaud à l'action d'HCl à 5 %. Le mélange refroidi est ramené à l'aide d'une solution de soude à un $\text{PH}=8$. Puis, par addition d'HCl, les protéines et leurs dérivés sont précipités ; le précipité isolé par filtration est redissous à chaud dans un milieu faiblement alcalin, et une seconde précipitation isoélectrique provoquée. La teneur en calcium d'une telle préparation est négligeable. Son principe actif est apparemment insoluble dans l'éther mais soluble dans l'alcool ; il résiste à 2 heures d'ébullition dans HCl N/10.

Cependant, d'après Allardyce, il est détruit par une hydrolyse trop prolongée ou par une acidité trop forte. La dessiccation diminue l'activité de l'extrait et la stabilité des solutions aqueuses est en raison directe de leur pureté. Une digestion pepsique ou trypsique de 24 heures ne détruit pas l'activité des préparations parathyroïdiennes.

Unité d'extrait parathyroïdien. Collip a défini l'unité de parathormone le centième de la quantité d'extrait capable d'élever de 5 mgr. la calcémie de chiens normaux de 20 kg. environ en une période de 15 heures.

Nature de la parathormone. Le principe actif est une protéine complexe qu'en 1925 Collip et Clark comparaient à l'insuline. Greenwald a supposé que la parathormone se trouvait dans le sang sous la forme de la partie dialysable, non ionisée du calcium. En réalité, il ne s'agit que d'une hypothèse sans fondement. Benjamin, ajoutant à du sérum ou à des solutions artificielles de la parathormone, n'a pas remarqué une augmentation du complexe diffusible non ionisé. Il est intéressant de poursuivre l'étude de différents réactifs sur l'hormone dans l'espoir de déceler la présence de grou-

pements chimiques bien définis en rapport avec l'activité physiologique de la glande.

Dans un travail récent, Tweedy et Torigoe ont montré les faits suivants :

1°) L'hormone parathyroïdienne est complètement rendue inactive par une solution à 40° d'aldéhyde formique agissant pendant 2 heures à la température de la chambre. Le produit obtenu peut être réactivé par ébullition dans une solution acide très diluée pendant 20 minutes. Ces résultats montrent que les groupements NH^2 sont nécessaires à l'action physiologique de l'hormone parathyroïdienne.

2° Une inactivation complète par l'acide nitreux laisse présumer qu'un groupement aminé est nécessaire à l'action physiologique de l'hormone.

3°) La possibilité d'adsorber la parathormone sur un adsorbant positif montre qu'elle se comporte comme un anion négatif. L'élution est réalisée par addition de NH_4OH à 0°.

Influence de la parathormone sur la calcémie.

Nous éviterons de citer tous les auteurs qui, depuis Collip, ont mis en évidence l'influence des extraits parathyroïdiens sur le taux du calcium sérique. Nous renvoyons les lecteurs à la bibliographie complète des articles de MM. Weill et Guillaumin, aux mémoires de Jung (Congrès chir., 1933), et en particulier à l'article du traité de Van Slyke (1932) concernant cette hormone. La littérature américaine de 1925 à 1934 abonde en publications. Nous n'insisterons que sur un certain

nombre de faits expérimentaux, sur les notions qui surgissent à la lumière des toutes dernières publications.

Contrairement à ce qui sera fait pour les autres glandes, nous étudierons son rôle sur la calcémie avant d'étudier son rôle sur la calcification.

1°) C'est bien avant de diriger les recherches des conséquences de l'hyperparathyroïdisme expérimentale sur la calcification osseuse, qu'ont été mises en évidence les modifications de la teneur en calcium du sérum.

2°) Le mécanisme, les sources de l'hypercalcémie parathyroïdienne ont été détaillés et de leur étude une compréhension plus facile des troubles de la calcification surgit.

En ce qui concerne les autres glandes, il est plus juste de suivre le plan inverse ; ce sont les troubles osseux qui ont dirigé les recherches sur le taux de la calcémie.

Envisageons successivement :

1°) Les effets de la parathormone sur les différents éléments minéraux du plasma.

2°) Les effets de la parathormone sur les différentes fractions du calcium sérique.

3°) Les sources de l'hypercalcémie dans l'hyperparathyroïdisme.

4°) Le mécanisme d'action de la parathormone.

L'extrait Collip agit à doses variables suivant l'animal, son âge, le mode d'injection (sous-cutanée, intra-veineuse, per os), le régime auquel il est soumis.

1) *Effets de la parathormone sur les différents éléments minéraux du plasma.*

Le taux du calcium total augmente suivant la quantité d'extrait injecté, l'espèce animale traitée, son âge et le régime auquel il est soumis (Shelling, Ascher, Jackson).

Parallèlement à la montée du calcium total, on constate un abaissement du phosphore inorganique.

Cependant, lorsque l'animal présente une intoxication sévère, le phosphore du sérum, l'urée, l'azote non protéique augmentent, les carbonates et les chlorures diminuent. Le taux du calcium à la suite d'injection peut monter jusqu'à 200 mgr. et plus, celui du phosphore s'abaissait jusqu'à 12 ou 13 mgr.

II) *Les effets de la parathormone sur les différentes fractions du calcium sérique.*

Les données les plus diverses ont été émises à ce sujet. Tous les essais qui ont tenté de prouver que la parathyroïde agit sur une fraction du calcium plutôt que sur une autre n'ont abouti qu'à des contractions. Résumons rapidement, d'un point de vue très général, les divers travaux.

1°) Greenwald et de nombreux autres chercheurs ont prétendu que la parathormone agissait sur le complexe calcique non ionisé, diffusible du plasma. Ce complexe serait la parathormone elle-même.

2°) Pour d'autres (Mac Kam, Moritz, Stewart et Percival), la parathormone agit sur la totalité du calcium diffusible, portion ionisée comme portion non ionisée.

3°) Arnold et Mendel, Cameroun et Moorehouse, etc. ont cherché, de même que Gilligan, Volk, Altschule, à mettre en évidence l'augmentation du calcium diffusible ionisé du sérum, après injection de parathormone en comparant l'action simultanée de l'hormone sur le taux du calcium dans le sérum, le LCR, le liquide d'ascite. De ces recherches, un fait semblerait ressortir : c'est sur le calcium diffusible, que porte l'augmentation après injection de parathormone.

4°) Or récemment, Hess, Benjamin et leurs collaborateurs, après avoir prétendu eux aussi, que l'augmentation portait sur le calcium ionisé, affirment que l'augmentation porte sur toutes les fractions du sérum dans les hypercalcémies du poulet et du chien.

D'autres auteurs confirment cette assertion.

De toute façon, il ne semble pas que ce soit de ces études qu'une explication du mécanisme d'action de la parathormone puisse être tirée. Des données plus intéressantes ont été apportées par Aub, Bauer, Albright etc..., que nous allons rapporter au chapitre suivant.

III) *Les sources de l'hypercalcémie dans l'hyperparathyroïdisme.*

Pour Salvesen, c'est en favorisant l'absorption du calcium que la parathormone interviendrait au niveau du tube digestif. Greenwald et Gross etc., s'opposent à cette opinion.

D'après la majorité des biologistes, la parathormone mobilise le calcium des tissus et principalement des os, ce qui amène une hypercalcémie considérable, en même

temps qu'une grosse perte de calcium. En effet, la teneur en calcium du régime n'a qu'une action relative sur le développement de cette hypercalcémie.

Albright, Aub, Bauer ont montré que la variation de la calcémie dans le sérum après parathormone était la conséquence d'une modification du taux des ions PO_4^{4-} , ce qui provoque un déséquilibre ionique ; le calcium du squelette est alors mobilisé. Ces auteurs nous offrent une théorie très séduisante du mécanisme d'action de la parathormone.

IV) *Mécanisme d'action de la parathormone (Bauer, Aub, Albright).*

Sous l'action des premières injections de parathormone, l'excrétion urinaire des phosphates augmente aux dépens du sang et des tissus mous. Il en résulte une hypophosphatémie. Pour rétablir l'équilibre ionique (selon Hastings, Murrey et Sendroy), les os perdent du calcium. L'hormone doit avoir la propriété de décalcifier directement par l'augmentation de la solubilité du calcium dans le sérum. Hastings, Murray et Sendroy prétendent que l'addition d'extrait parathyroïdien amène une augmentation de la solubilité du calcium dans le sérum (ces faits sont cependant controuvés par différents auteurs). Non seulement, il y a augmentation de la solubilité du calcium des os, mais aussi du phosphore. Aussi, peut-on s'expliquer la remontée du taux du P dans le sang après un certain temps. Si on administre la parathormone pendant une longue période à un individu normal, elle perd au bout d'un certain temps ses effets sur le taux du calcium et

du phosphore sérique, et l'excrétion du calcium et du phosphore redevient normale.

Aub, Albright, et leurs collaborateurs, illustrent cette théorie de nombreux tableaux, de nombreuses courbes. Cette théorie est très séduisante, cependant elle n'est pas en accord avec un certain nombre de données.

1°) Certains faits rapportés par eux sont vivement contestés (Thomson et Pugsley).

2°) Ils supposent admise la théorie d'Hastings, Murray, Sendroy, sur la parathormone solubilisant les sels de calcium, ce qui est douteux (Thomson et Pugsley).

3°) Elle ne tient pas compte de certains faits comme l'accroissement simultané du P et du Ca, lors de l'injection de doses toxiques. Il nous semble que ce dernier argument n'a qu'une valeur très restreinte, car, dans ces phénomènes toxiques, d'autres facteurs (hépatiques, peut-être) interviennent.

Influence de la parathormone sur le squelette.

1°) Les faits.

Greenwald et Gross furent les premiers à s'intéresser au rôle de la parathormone sur le squelette, mais de leurs expériences ne tirent aucun résultat. Depuis, de nombreux travaux nous sont parvenus : Bauer, Albright et Aub, Jaffe et Bodansky, Johnson et Wilder, Hoff et Marx, Bréchet et Pergola ; Leriche, Jung et Surreyya Cemil, Benjamin, etc., etc..., plus récemment, un gros travail très instructif de Schelling, Ascher et Jackson. Bien souvent, des notes de détails contradictoires appa-

raissent dans ces publications, cependant un fait domine : l'action indéniable des glandes parathyroïdes sur le squelette. Les preuves sont de trois ordres : anatomiques et radiologiques, histologiques, chimiques.

a) Preuves cliniques radiologiques: Bauer, Albright et Aub, injectant 8 unités de parathormone par jour, à des lapins, ont reproduit dans les métaphyses de ces animaux, des déformations dégéodes analogues à celles de l'ostéite fibro-kystique de Recklinghausen. Ces modifications peuvent être considérables.

En France, Bréchet et Pergola ont apporté à la Société nationale de Chirurgie de très belles radiographies montrant la résorption osseuse chez le lapin après administration prolongée d'extrait parathyroïdien.

Sur le chien, Jaffe et Bodansky ont noté des lésions généralisées affectant le crâne, la face, les os longs ; ces derniers sont déformés et tordus. Les lésions portent au maximum sur la diaphyse dans la région diaphyso-épiphyse, épargnent les épiphyses.

b) Preuves histologiques : Certains expérimentateurs n'ont pas noté d'aussi grosses modifications macroscopiques, mais sur les os qui, radiologiquement, étaient décalcifiés, l'examen anatomo-pathologique a montré les lésions caractéristiques de la maladie de Recklinghausen : résorption lacunaire des travées de la corticale osseuse ; remplacement de la moelle par du tissu conjonctif fibreux (Johnson et Wilder) ; envahissement des espaces haversiens par du tissu fibreux ; présence de lacunes de Howship, contenant des ostéoclastes ; kystes et foyers hémorragiques (Jaffe et Bodansky).

Mais les modifications histologiques ne sont pas cons-

tamment les mêmes ; on peut obtenir des signes de résorption osseuse sans fibrose médullaire « la fibrose médullaire nous apparaît comme un phénomène spécial différent des réactions et modifications calciques locales et générales » (Leriche, Jung, Serreyya-Cemil).

c) Preuves chimiques : Le taux des cendres des animaux traités par la parathormone, rapporté au poids d'os sec est très diminué. Mais les épiphyses sont beaucoup moins touchées que les métaphyses ; le pourcentage des cendres est plus grand (Morgan, Kimmel, Thomas, Samisch), le taux du calcium rapporté au poids d'os sec est très diminué (Schelling et ses collaborateurs).

Mais, comme le montre Schelling, l'abaissement très fort du pourcentage du calcium de l'os, n'est pas dû seulement à une décalcification, mais aussi à la prolifération des trabécules, qui ne fixent pas le calcium ; des néo-formations ne se calcifient pas. La parathormone, d'après différents auteurs, ne décalcifie pas entièrement les os ; elle s'arrête à un certain stade ; si on donne alors NH_4Cl à l'animal, ce sel vide alors complètement les os de calcium (Bauer).

2°) *Action de la parathormone et autres facteurs.*

Nous n'étudierons pas dans ce paragraphe l'action comparative de l'ergostérol et de la parathormone ; ce point sera étudié plus loin. Mais il convient de rapporter un certain nombre de faits signalés par Schelling, Ascher et Jackson.

L'action de la parathormone est différente suivant l'espèce animale ; suivant son âge (chez le jeune rat

âgé de moins de 15 jours, on obtient des décalcifications et, d'autre part, des lésions à type de sclérodermie) (Selye). Le régime également intervient dans l'action de la parathormone.

3°) *Quel est le mécanisme que l'on peut invoquer ?*

Il est très obscur. Hastings, Murray et Sendroy prétendent que l'extrait parathyroïdien facilite la dissolution des sels de calcium de l'os ; il ne s'agit là que d'une hypothèse qui agrée à la théorie de la calcification qu'ils ont émise. Pour une fois, ils reconnaissent l'intervention d'un phénomène biologique, mais ne l'étudient pas. Jaffe, Bodansky et Brain affirment, et cela est basé sur des constatations histologiques, que la parathormone excite l'activité des ostéoblastes.

Pusgley et ses collaborateurs ont montré que les injections augmentent le nombre des ostéoclastes.

D'autres auteurs comme Aub, Albright, Bauer ont l'attention fixée sur les modifications du métabolisme du phosphore et ne considèrent toutes les modifications du métabolisme du calcium que secondaires à celles du phosphore. Greenwald vint jusqu'à proposer le terme de « phosphorication » pour remplacer celui de calcification.

Ce qui frappe dans tous les travaux publiés jusqu'ici et dont nous avons parlé, c'est qu'en aucun cas, si ce n'est peut-être Schelling qui note des modifications du tissu conjonctif, on a prêté attention à la trame interstitielle sur laquelle se dépose le calcium. Les histologistes ont constaté des modifications histo-patho-

logiques, mais ne pensent pas aux modifications chimiques que la parathormone peut faire subir à cette trame.

Recherches personnelles.

Sur 3 lapins, nous avons pratiqué des injections de parathormone et reproduit des lésions typiques : décalcification osseuse, grosse déformation et incurvation de certains os, géodes et kystes. Nous avons étudié la calcémie et la phosphatémie de ces lapins hyperparathormonisés et établi des courbes (voir fig.). D'autre part, des analyses furent pratiquées sur les os ; nous avons déterminé le pourcentage des différents éléments. Enfin, nous avons extrait des os de ces lapins, du collagène, par la méthode de solubilisation de l'os-séine ; nous prenions, à cet effet, les os qui nous apparaissaient les plus touchés.

Voici les observations de ces trois lapins :

Lapin 8 : 3 mois, 1 kgr. 720. A reçu, du 15 juin au 17 juillet, 245 unités de parathormone Lilly (Indianapolis U.S.A.).

Au début, réactions vives : dyspnée, diarrhée, hypotonie très marquées.

Examen du sérum.

Dates :	15/6	20/6	23/6	9/7	12/7
Ca	0,098 ‰	0,121 ‰	0,102 ‰	0,140 ‰	0,210 ‰
P	0,0345 ‰	0,047 ‰	0,050 ‰	0,022 ‰	0,014 ‰
Ca/P	2,8	2,5	2	6,3	15
p(HI)	24,16	23,62	23,8	24,08	23,88
Urée	0,23 ‰		0,25 ‰	0,38 ‰	
Ac. ur.	0,042 ‰	0,048 ‰	0,053 ‰		

En résumé, le p(PI) varie peu, alors que le Ca/P augmente considérablement.

Une radiographie fut pratiquée le 12 juillet : décalcification généralisée, formation kystique, surtout dans les humérus et radius et cubitus des pattes antérieures. Déformation et incurvations minimales.

Analyse chimique de l'os : diaphyse humérale.

Eau	39,5 %	21,2 % (normal)
Subst. org.	14,7 %	24,9 % (id.)
Sels	45,8 %	53,9 % (id.)
Sels/Subst. org.	3,1 %	2,16 % (id.)
Ca % des cendres	40,26 %	48 % (id.)

(Examen comparatif pratiqué dans les mêmes conditions chez un lapin normal frère du lapin étudié).

En somme, les os contiennent plus d'eau, moins de matières organiques et moins de calcium dans les cendres.

Etude du collagène : on obtint assez facilement le collagène selon la méthode de Loiseleur, mais ce qui frappa, ce fut une plus grande proportion de collagène hydrolysé après précipitation par l'alcool qui restait en suspension dans le milieu, et n'était pas agglutinable. Dosage des groupements $\text{NH}_2\text{N} \% = 0,324$.

Le spectre d'absorption en U. V. était normal. La courbe de neutralisation et celle de pouvoir tampon ne montraient que des différences infimes. Toutefois, la substance paraissait moins tamponnée (voir 1^{er} chapitre).

Lapin B 81 : Lapine de 5 mois $\frac{1}{2}$, à laquelle on a injecté 615 unités d'extraits parathyroïdiens. Poids : 1 kgr. 640.

Avant l'injection : Ca	=	0,096 ‰
P	=	0,031 ‰
Ca/P	=	3 et p(PI) = 24,2

Du 7 au 12 septembre, elle reçoit 28 unités de parathormone COLLIP.

12 septembre au 5 novembre, 587 unités de parathyrone BYLA.

Le 12 septembre	(28 unités)	P	=	0,037 ‰
19 —	(90 unités)	P	=	0,057 ‰
1 ^{er} octobre	(187 unités)	P	=	0,027 ‰
17 —	(288 unités)	P	=	0,021 ‰
29 —	(520 unités)	P	=	0,018 ‰
		Ca	=	0,140 ‰
		Ca/P	=	7,7 ‰
		p(PI)	=	24,24 ‰
12 novembre	(615 unités)	P	=	0,031 ‰
(Arrêt des injections depuis une semaine).		Ca	=	0,113 ‰
		Ca/P	=	3,6 ‰
		p(PI)	=	24 ‰

Radiographies : Le 9 novembre 1934 (D^r Novel, Prof. Bérard, Service du Centre anticancéreux).

On note les lésions de calcification portant sur tous les os longs — les géodes de l'humérus et du cubitus — la déformation très marquée des os des pattes antérieures — les lésions portent, avant tout, sur les membres antérieurs.



RADIO I.

Sacrifié le 12 novembre. Photographie des os :



Analyses chimiques de l'os :

$$\frac{\text{Cendres}}{\text{Substances organiques}} = 1,62$$

Il y a donc une diminution nette des sels fixés par la portion organique.

Lapin B 82 : 5 semaines, 0 kgr. 705. A reçu, du 13 septembre au 29 octobre, 405 unités de parathormone BYLA.

Le 8 septembre		P	=	0,045 ‰
20 —	(38 unités)	P	=	0,047 ‰
26 —	(89 unités)	P	=	0,045 ‰
8 octobre	(115 unités)	P	=	0,026 ‰
18 —	(265 unités)	P	=	0,017 ‰
		Ca	=	5,147 ‰
		Ca/P	=	8,6 ‰
		p(PI)	=	24,48 ‰
24 —	(300 unités)	P	=	0,022 ‰

Radiographie : On constate que les lésions, analogues à celles du lapin précédent, sont cependant moins marquées ; elles prédominent aux membres supérieurs (Radio n° 2).

Examen chimique des os :

Cendres	
Substances organiques	= 1,84 (chez le normal : 2,16)

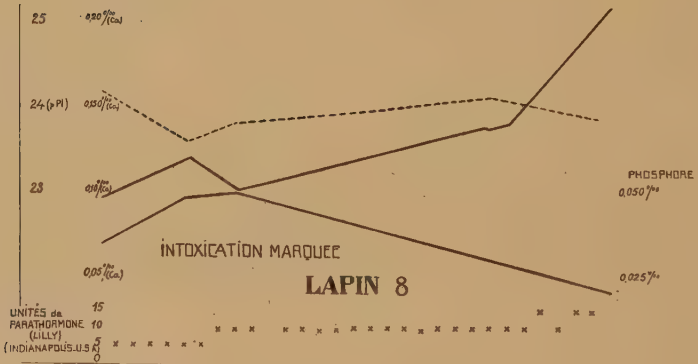
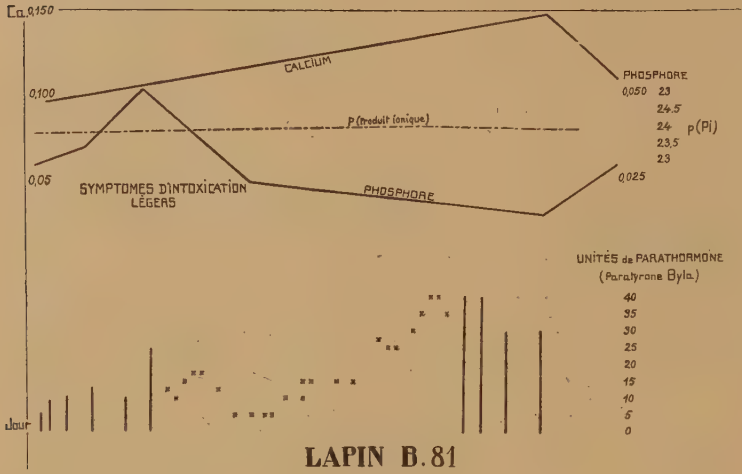
A ce stade très avancé, il semble bien que la portion organique fixe moins de Calcium.

Ces expériences nous montrent les faits suivants :

1°) *Au niveau du sang.* — Les injections de parathormones augmentent le taux de la calcémie, diminuent celui de la phosphatémie, augmentent l'écart entre le calcium et le phosphore et enfin modifient très peu le p(PI).



RADIO II.



2°) *Au niveau de l'os.* — Il a été possible de reproduire des lésions semblables à celles de l'ostéite fibro-kystique de Recklinghausen ; ainsi que nous le montrent les radiographies et la photographie ci-dessus publiées. Les examens histologiques seront publiés ultérieurement.

L'examen chimique de l'os met en évidence une atteinte de la substance organique. Le calcium est peu diminué par rapport au poids de la substance sèche. Le pourcentage de l'eau est considérablement augmenté.

Influence du corps thyroïde.

A) Sur la calcification.

L'influence de cette glande sur la croissance est très connue depuis les travaux de Gley, Moussu, Doyon, etc.; les jeunes animaux thyroïdectomisés ont cet aspect en boule si caractéristique. Les os sont plus courts (jusqu'à la proportion de 2/5), ils paraissent comme soufflés et si leur croissance en longueur est réduite ils continuent cependant à s'accroître en épaisseur. Les points d'ossification apparaissent beaucoup plus tard ; et ce qu'il y a de plus caractéristique chez l'hypo-thyroïdien, dirons-nous avec Abel et Hermann, c'est que le pouvoir prolifératif des cartilages de conjugaison est seulement inhibé et non point supprimé à longue échéance. Si ces phénomènes sont bien connus, absolument certains, le rôle de la thyroïde dans la fixation calcique et le processus de la calcification en lui-même est fort obscur.

D'après HOFMEISTER, EISELBERG, la calcification des os serait très faible chez les myxœdémateux. L'étude radiologique montre des os plus clairs, nettement décalcifiés. Vaglio note des lésions osseuses à la suite de la thyroïdectomie, lésions qui selon Claude et Rouillard seraient comparables à celles du rachitisme. Certains auteurs ont prétendu que les extraits thyroïdiens empêchaient le développement du rachitisme. Nous n'insisterons pas sur ce point très bien étudié à Lyon par les travaux de MM. Mouriquand, Leulier, Bernheim, Mlle Schoen : des rats soumis au régime rachitigène 85 de Papenheimer ne sont pas améliorés par les extraits thyroïdiens. C'est une action décalcificatrice qu'aurait l'extrait thyroïdien lorsqu'il est donné en excès.

L'existence de fractures spontanées chez les Basedowiens et les animaux soumis à l'extrait thyroïdien confirme cette assertion.

B) *Action sur la calcémie.*

1°) *Hypothyroïdisme*: Marie Parhon, après avoir pratiqué une thyroïdectomie sur trois jeunes agneaux, note un an plus tard un abaissement de la calcémie de $\frac{1}{3}$ environ. Greenwald obtient un résultat analogue.

Mais, selon Maria Maxime et C. Vasiliu, l'ablation de la thyroïde pratiquée chez des chiens de 10 à 12 kg. est suivie d'une augmentation du calcium dans le sang pouvant aller jusqu'à 250 mgr. par litre. Werner, sur le mouton et le lapin, constate de semblables résultats.

2°) *Hyperthyroïdisme* : Selon Cahane, la calcémie des chiens hormonisés étant de 107 à 130 mgr., celle des chiens ayant reçu de l'extrait thyroïdien s'élèverait jus-

qu'à 174 mgr. De même Uchida chez les animaux nourris avec du corps thyroïde trouve une augmentation du calcium dans le sang. Dans la maladie de Basedow, Eppinger et Hess, Bellegheimer notent de l'hypercalcémie. Leicher, Kylin, Jansen, Woldorp et Trelles signalent de l'hypocalcémie. Enfin, Castex et Steingart ne trouvent pas de relation entre la teneur du sang en calcium et la fonction thyroïdienne.

Personnellement, sur un cobaye éthyroïdé à l'âge de un mois, nous avons trouvé 4 mois après l'opération un taux de Ca sensiblement normal : $\text{Ca} = 0,097 \text{ ‰}$; $\text{P} = 0,048 \text{ ‰}$. Ce cobaye présentait l'aspect caractéristique de l'hypothyroïdien : aspect en boule, plus bas sur pattes que le témoin, poils hérissés, il pesait 470 gr. alors que le témoin pesait 600 gr.

Influence du thymus. *

I) SUR LA CALCIFICATION.

Les opinions sont diverses.

A) Faits positifs.

1°) La thymectomie.

Tarulli et Lo Monaco en 1896 ont remarqué des altérations du squelette, l'incurvation des os, des animaux

(*) Nous remercions Monsieur le professeur agrégé Bernheim de l'importante Bibliographie qu'il a bien voulu nous communiquer.

thymectomisés. Sommer, Cazzolino, Ugo-Soli mentionnaient des modifications analogues : incurvation, raccourcissement des os, gonflement des épiphyses, etc. Basch, pour mieux mettre en évidence l'action de la thymectomie, a produit sur des animaux opérés et des animaux de contrôle, des fractures. Il suivit leur évolution radiographique : chez des animaux de contrôle, on voit après 8 ou 10 jours, un cal volumineux qui persiste plusieurs semaines ; après 8 jours l'animal peut se servir de son membre fracturé ; chez l'animal opéré, il n'existe qu'un léger épaissement périostal ; souvent le cal manque complètement ; l'évolution clinique est celle des os rachitiques.

Lindeberg (1924) signale des lésions très nettes après thymectomie chez le porc, le chien, le chat : des calcifications, contrôlées fréquemment par la radiographie, aspect rachitiforme ; en outre, trouble marqué de la dentition. Mais il ne remarqua pas de fractures spontanées comme Klose, Vogt, etc. ; des déformations ou des géodes à type d'ostéite fibro-kystique comme l'avait signalé Matti, ni les troubles à type ostéo-malacique décrits par Klose. Il explique par une cause mécanique les déformations, les courbures des extrémités osseuses, et enfin signale que des lésions rachitiformes surviennent même chez des animaux chez lesquels l'extirpation n'avait pas été totale.

2°) *Les extraits thymiques.*

L'injection d'extrait chez des animaux normaux ne donne pas de grandes précisions ; mais il semble que les extraits thymiques, injectés à des animaux fracturés,

activent la formation du cal (Bier, Demer, Glaessner et Hass).

A nouveau, en 1928, O. Bartoli a repris ces études. Après avoir pratiqué des fractures chez le lapin, il en étudia le mode de consolidation, soit chez des animaux privés de thymus, soit chez ceux soumis à des injections d'extrait thymique homologue ou hétérologue. Chez ceux traités par les extraits homologues, il se formerait un cal plus abondant que chez les animaux traités par les extraits hétérologues ; de même, les phénomènes de résorption osseuse et la reconstitution de l'os normal sont plus rapides. Chez les animaux thymectomisés, on constate encore, 75 jours après la fracture, un cal ostéoïde et, seulement dans quelques points, de rares travées d'ossification.

B) *Fails négatifs.*

Lucien et Parisot furent parmi les premiers à signaler un retard marqué sur la croissance chez les animaux thymectomisés. Mais, écrivent-ils, « le thymus n'aurait pas un rôle spécial dans le développement osseux, c'est le développement général qui est atteint, il s'agit d'une sorte d'atrophie portant sur tous les tissus ». La croissance des os est ralentie, et plus particulièrement celle des os du bassin, des omoplates et du crâne ; mais en ce qui concerne la structure intime de l'os, on ne peut signaler des modifications appréciables.

Park et Mac Clure nient au thymus tout rôle spécifique, aussi bien dans la croissance que dans la calcification osseuse. Cette affirmation amène une protestation d'Hammar qui reconnaît une action certaine sur

la croissance ; en ce qui concerne la calcification, ces affirmations sont moins fermes. Si Nettenheimer et Mendel ont employé avec succès l'opothérapie thymique dans le rachitisme, la plupart des auteurs au contraire, Stöltzner et Nissauer, Mouriquand, Leulier, Bernheim, n'ont remarqué aucune action de l'opothérapie thymique. Enfin, plus récemment, Greenwood et Blyth, reprenant la thymectomie chez les poules, mettent en évidence le peu de trouble sur le métabolisme calcique que provoque la thymectomie : la coquille et les membranes des œufs pondus sont normales ; si la coquille manque, c'est que l'opérateur, en voulant enlever les thymus accessoires situés à la face postérieure du corps thyroïde, a enlevé en même temps les parathyroïdes.

II) SUR LA CALCÉMIE.

Lorsque l'on parcourt les différents auteurs, on est frappé des affirmations contradictoires. Selon Leites, la thymectomie amènerait un abaissement du calcium sérique (Von Brach, Bracce). Ugo-Soli note une baisse du calcium et une augmentation très nette du phosphore. Pour Liesegang, cette augmentation du phosphore pourrait s'expliquer de par le fait que le thymus très riche en nucléines serait chargé d'assurer la synthèse de ces substances par neutralisation de l'acide phosphorique en excès. Derivici rapporte que l'augmentation du phosphore n'est que passagère et que quelques jours après l'intervention elle diminue. Lucien et Parisot ne signalent pas de modification de la calcémie,

mais l'excrétion calcique serait exagérée. Crema, après injection intra-veineuse d'extrait thymique, rapporte une diminution du taux du calcium dans le sang (ce qui est en opposition avec les auteurs précédents). A l'heure actuelle, certains physiologistes prétendent opposer le thymus aux parathyroïdes, et veulent voir dans cet organe un élément qui neutraliserait l'action de ces glandes. Le thymus aurait sur la calcémie une action inverse des parathyroïdes. Il y aurait un antagonisme entre la sécrétion thymique et la parathormone.

Recherches personnelles.

Nous avons pratiqué des thymectomies sur 2 séries de 6 lapins (la technique opératoire, l'analyse complète des résultats obtenus seront publiées ultérieurement dans un article en collaboration avec MM. Enselme et Frieh). Nous ne rapportons ici qu'un certain nombre de résultats concernant l'influence de la thymectomie sur la calcification et la calcémie.

A) Conséquences de la thymectomie sur le taux de Ca et P inorganique du sérum.

1). Première série de 6 lapins âgés de 3 mois lors de la thymectomie.

Lapin N° I.

Avant l'opération :	Ca = 0,105 ‰
	P = 0,059 ‰
15 jours après :	Ca = 0,108 ‰
	P = 0,058 ‰

Lapin N° II.

Avant l'opération :	Ca = 0,110 ‰
	P = 0,032 ‰
8 jours après :	P = 0,043 ‰
21 jours après :	P = 0,036 ‰
	Ca = 0,118 ‰

Lapin N° III.

Avant l'opération :	P = 0,048 ‰
4 jours après :	P = 0,054 ‰

(Mort au 15^e jour, d'abcès du poumon).

Lapin N° IV.

Avant l'opération :	P = 0,042 ‰
	Ca = 0,087 ‰
2 jours après :	P = 0,058 ‰
7 jours après :	P = 0,061 ‰
15 jours après :	P = 0,0389 ‰
17 jours après :	Ca = 0,093 ‰

Lapin N° V.

Avant l'opération :	P = 0,043 ‰
	Ca = 0,109 ‰
2 jours après :	P = 0,064 ‰
15 jours après :	P = 0,0407 ‰
	Ca = 0,102 ‰

Sur une deuxième série de jeunes lapins âgés de quatre à six semaines, et dont le poids oscillait entre 500 et 800 grammes, nous avons également pratiqué des thymectomies, mais aucun de ces jeunes lapins n'a survécu plus d'un mois. Ils sont morts entre le 25^e et le 30^e jour après l'opération. Pendant 20 jours, leur

courbe de poids était croissante comme celle des lapins témoins, mais, très rapidement, en l'espace de quelques jours, ces lapins opérés à des périodes différentes, séparés les uns des autres, se sont mis à dépérir et sont morts en l'espace de quelques jours. Sauf, en ce qui concerne les deux derniers lapins, nous n'avons pu faire l'analyse chimique du sang de ces animaux au moment où ils commençaient à dépérir. Chez les deux derniers, nous avons noté un taux d'urée élevé. A l'autopsie, ces jeunes lapins ne présentaient rien de particulier (ni abcès du poumon, ni abcès du myocarde, rien aux autres organes).

2) Deuxième série.

Lapin D 14.

Avant l'opération :	P	=	0,043 ‰
	Ca	=	0,104 ‰
2 jours après :	P	=	0,051 ‰
8 jours après :	P	=	0,045 ‰
16 jours après :	P	=	0,037 ‰
	Ca	=	0,101 ‰

Lapin B 75.

Avant l'opération :	P	=	0,034 ‰
2 jours après :	P	=	0,048 ‰
7 jours après :	P	=	0,037 ‰
	Ca	=	0,098 ‰

Lapin B 76.

Avant l'opération :	P	=	0,037 ‰
4 jours après :	P	=	0,058 ‰
9 jours après :	P	=	0,038 ‰

Lapin B 77.

Avant l'opération :	P	=	0,034 ‰
2 jours après :	P	=	0,057 ‰
6 jours après :	Ca	=	0,092 ‰
	P	=	0,061 ‰

Lapin B 78.

Avant l'opération :	P	=	0,037 ‰
2 jours après :	P	=	0,059 ‰
4 — —	P	=	0,064 ‰
6 — —	P	=	0,060 ‰
9 — —	P	=	0,047 ‰
13 — —	P	=	0,035 ‰
16 — —	P	=	0,038 ‰
	Ca	=	0,100 ‰

On voit, d'après ces résultats, que la thymectomie ne modifie pas la calcémie ; la phosphatémie est augmentée après l'opération ; cette élévation ne persiste pas : 15 jours après, le taux est redevenu normal. On ne peut nullement tenir compte de cette augmentation même passagère de la phosphatémie, car dans notre technique opératoire, nous avons sectionné le sternum, et ainsi provoqué une fracture qui, à elle seule, est suffisante pour expliquer cette légère modification. D'après ces résultats, aucune raison nous permet d'opposer l'action du thymus à celle de la parathyroïde.

B) Conséquence de la thymectomie sur le squelette.

Trois mois après l'intervention, les lapins sont radiographiés, ainsi que les témoins ; on ne constate pas de différence.

On sacrifie le lapin n° IV.

Etude chimique de l'os :

Eau = 15,75 % (au lieu de 21,2 % — lapin normal).

Substances organiques = 21,95 % (au lieu de 25 %).

Cendres = 63,35 % (au lieu de 53,9 %).

En résumé, ce qui frappe, c'est l'augmentation des cendres et la diminution légère de la matière organique.

On a également étudié le collagène obtenu à partir des os de ce lapin ; ce collagène était normal — N des groupements NH^2 (Soerensen) = 0,333 %. L'étude du spectre d'absorption en U.V. du collagène de ce lapin thymectomisé ne présentait pas de différence avec celui du collagène du lapin normal ; il en était de même en ce qui concerne la courbe de neutralisation et la courbe de pouvoir tampon.

Lapin n° III. Ce lapin est mort brusquement sans présenter de troubles auparavant, un mois après sa thymectomie. A l'autopsie, on ne relève ni abcès du poumon, ni abcès du myocarde — rien d'anormal aux autres organes.

Examen chimique d'une diaphyse fémorale :

Eau	12,1 %
Substances organiques	27,2 %
Cendres	60,7 %
Calcium au poids des cendres..	55 %

De ces deux analyses chimiques, il ne semble pas que l'on puisse conclure au rôle décalcificateur de la thymectomie ; au contraire, les os des animaux thymecto-

misés contenaient plus de cendres, et moins de matières organiques et d'eau. Rappelons que, lors de nos thyroïdectomies, nous provoquions une grosse mobilisation calcique en fracturant le sternum.

Influence des glandes génitales.

1°) LES OVAIRES.

A) Rôle sur la calcification.

L'ovariectomie, chez la truie, ne s'accompagne d'aucune modification du squelette. On a constaté de même l'absence de troubles osseux chez les femmes indoues castrées. Steirurer pratique la castration chez un rat mâle et chez une femelle, il opère la greffe du sexe opposé. Le testicule n'a pas d'action accélératrice sur le développement de la femelle. L'ovaire a une action frénatrice sur le développement du rat mâle. Certains rattachent à l'insuffisance ovarienne l'ostéomalacie. Ce n'est là qu'une hypothèse pathogénique.

B) Sur la calcémie.

a) *La castration.* Les avis sont partagés :

— Les uns signalent de l'hypercalcémie. Tel est le cas de Blanchetière, qui observe une élévation du taux du Ca du sérum quatre fois sur six après ovariectomie. Rouhier et Sarvonnat, Malamud et Mazzacco partagent cette opinion, de même que Werner, en ce qui con-

cerne les cobayes, les chèvres et les moutons. D'après Trifon, la calcémie des cobayes châtrés serait de 136 mgr. en moyenne.

— Kehrer, Leicher après castration ne trouvent pas de modification de la calcémie.

— Au contraire Adler, Reach notent de l'hypercalcémie chez le rat châtré. Dalsace et Guillaumin, 4 fois sur 5, rapportent une hypocalcémie après castration double chez la femme. Heyn, Haase, Bock confirment le fait que la castration, effectuée durant l'âge d'activité sexuelle, entraîne une légère chute du calcium circulant, mais cette diminution est passagère.

Weill et Guillaumin rapportent que chez des femmes hystérectomisées, 7 à 10 mois après l'opération on constate des troubles marqués de la phosphatémie qui est très diminuée, mais aucun trouble de la calcémie.

b) *L'injection d'extraits ovariens.* Selon Mirvirch et Bosman l'hormone ovarienne retirée soit du liquor folliculi, soit du reste de l'ovaire, du corps jaune et même du placenta, provoque une diminution du taux du calcium sanguin comme chez le lapin mais moins forte chez l'homme.

c) *Dysménorrhée et calcémie.* Pour Schulter, l'insuffisance ovarienne s'accompagne d'hypercalcémie. Différents auteurs sont d'un avis opposé, en particulier Weill et Guillaumin qui signalent un taux de calcium normal. Ce fait est d'autant plus surprenant que le taux de phosphore inorganique du sérum est toujours très abaissé ; dans un certain nombre de cas cependant, ces auteurs ont trouvé une calcémie qui s'élevait à 113 mgr. par litre.

d) *Menstruation et calcémie*. Blair Bell signala un cycle menstruel de la calcémie : hypercalcémie au début des règles, hypocalcémie après. Mais des recherches des autres auteurs (Malamud et Mazzocco, Kylin, Sherman, Juliet et Pape, Heyn et Haase, Rittman...), on ne peut tirer aucune donnée précise et définitive.

e) *Grossesse et calcémie*. La majorité des auteurs signalent une hypocalcémie durant la grossesse (Moron et Mazzocco, Kehrer, Harding, Bogert et Plass etc...). Vignes et Guillaumin ont toujours trouvé une légère hypocalcémie dont le taux baissait durant les phases tardives de la grossesse.

f) *Lactation et calcémie*. La calcémie est généralement abaissée.

2°) LES TESTICULES.

La grande taille des eunuques par hyperallongement des membres inférieurs, surtout des tibias, avec persistance du cartilage de conjugaison, montre le rôle de ces glandes sur la morphogénèse. Poncet et Dor, injectant du liquide orchitique à l'animal, provoquent une réduction de la taille et arrêtent la croissance de l'os en longueur. Mais le rôle des testicules sur la calcification elle-même n'a pas été étudié.

Mirvisch et Bosman rapportent que les extraits orchitiques abaisseraient la calcémie sérique.

En résumé, les glandes génitales semblent, d'après tous ces travaux, avoir un rôle important sur la morphogénèse ; douteux sur la calcification. Les résultats

en ce qui concerne l'influence de ces glandes sur la calcémie sont sujets à de nombreuses controverses.

Recherches personnelles.

Nous avons recherché le taux de calcium et de phosphore inorganique du sérum chez quatre lapines ovariectomisées, il y a 18 mois, dans le laboratoire de M. le Professeur Leriche ; nous avons trouvé d'une façon constante une augmentation de la calcémie et une diminution de la phosphatémie.

	Poids de l'animal	Ca	P	p(PI)
N° I	4 kgr. 600	0,140 ‰	0,025	23,96
N° II	2 kgr. 400	0,141 ‰	0,028	24,02
N° III	3 kgr. 600	0,144 ‰	0,028	24,08
	3 kgr. 600	0,145 ‰	0,027	24,1

Influence des surrénales.

C'est uniquement la médullo-surrénale qui peut agir par l'intermédiaire de l'adrénaline sur les phénomènes que nous étudions.

A) Sur la calcification.

Les faits sont de deux ordres.

1°) *Les uns positifs.* Stoeltzner, en 1897, avait émis l'opinion que l'adrénaline fixait le calcium. Biasotti, Carnot et Slavy, Gley ont constaté que l'injection quo-

tidienne d'adrénaline abrège le travail de consolidation des fractures expérimentales. En injectant de l'adrénaline sous la peau du jeune rat, Binet et Vagliano ont prévenu l'éclosion du rachitisme produit par le régime 85 de Papenheimer.

2°) *Les autres négatifs* : d'après Etienne et Fritsch, Schiff et Peiper, le calcium s'élimine avec une grande abondance lors du traitement adrénalinien; on peut ainsi créer une forte ostéomalacie expérimentale. Bonnamour, Sarvonat, etc..., démontrèrent que l'association d'adrénaline au chlorure de calcium, détermine chez le lapin des lésions d'ostéomalacie avec décalcification intense. Manoussakis en 1923, par la méthode des bilans, montre que l'adrénaline agit comme décalcifiant. Une série d'importants travaux lyonnais (Mouriquand, Leulier, Bernheim, Mlle Schoen, Mlle Weill) ne peuvent confirmer le pouvoir anti-rachitique de l'adrénaline dans le rachitisme, et montre que l'adrénaline aggrave l'effet du régime 85.

B) *Sur la calcémie.*

Castex et Schteingart trouvent que les résultats sont des plus variables après injection d'adrénaline. En réalité, les modifications peuvent être sans relation avec le métabolisme du calcium lui-même, car l'adrénaline provoquant des hyperglycémies, modifie la concentration du sérum en ions PO^4 . Mirvisch et Bosman ont montré que la capsulectomie augmentait le calcium. Nous rapportons l'observation suivante :

Avant l'intervention :	Ca	=	0,108 ‰
Après l'intervention :	Ca	=	0,095 ‰
	P	=	0,028 ‰
	p(PI)	=	24,35
	Ca/P	=	3,29

Influence de l'hypophyse.

A) Sur la calcification.

C'est la clinique qui nous renseigne.

1° Hypo et apituitarisme : l'hypopituitarisme conditionne le nanisme hypophysaire. Ascoli et Legnali ont décrit, après ablation de l'hypophyse, d'importants troubles de la morphogénèse. Les os de ces animaux étaient plus transparents, plus pauvres en chaux, parfois déformés avec des fractures spontanées.

2° Hyperpituitarisme chez l'animal jeune conditionne le gigantisme, l'accromégalie chez l'animal adulte. On n'a aucune donnée sur les modifications chimiques de l'os qui accompagnent ces phénomènes.

B) Sur la calcémie.

Une remarque s'impose d'abord : l'hypophyse intervenant dans le métabolisme des hydrates de carbone, de même que le pancréas ou la médullo-surrénale, provoque des modifications dans le taux du phosphore et, par conséquent, dans celui du calcium.

1°) *Hyperpituitarisme* : Leicher pense que les extraits diminuent la calcémie. Nagazama, qu'ils n'ont aucune

action directe. Waldorp, Laignel-Lavastine et Morlaas rapportent des observations dans lesquelles le taux du calcium est abaissé.

2°) *Hypopituitarisme* : en 1921, Houssay et Mazocco trouvèrent, chez 6 chiens hypophysoprivés, des taux de calcium sérique légèrement plus bas que chez 17 témoins. En 1927, Mazocco ne trouve pas d'abaissement. Koster et Geesink (1929) note une légère diminution. Enfin, tout récemment Gerschman (1932), sur 8 chiens hypophysoprivés et 13 témoins, trouva des taux de calcium et de phosphore sensiblement voisins et normaux.

Influence de la rate.

1°) *Sur la calcification* : Alors que Chester Herry concluait, d'après une série d'expériences sur les lapins et les chiens, que la rate était sans influence sur la croissance, Abelous et Soula ont constaté un retard très net: les os étaient plus petits, plus grêles, avec des épiphyses très transparentes à la radiographie.

2°) *Sur la calcémie* : Harrower (1913) estimait que l'opothérapie splénique élevait la calcémie. Nishimura, en 1928, a la même opinion.

Cependant, Abelous et Soula ont montré qu'au contraire l'élimination calcique est plus forte chez les dératés. Hall et Abladian pensent que la splénectomie est suivie d'hypocalcémie. Hunderhill et Gross dénie toute influence à la rate sur la teneur en calcium du sang. Très récemment, Baudoin, Lewin et Azerad (1934)

poursuivant leurs recherches sur la régulation de la calcémie ont étudié l'influence de la rate sur le phénomène de la réascension calcique après injection d'oxalate de soude chez les animaux splénectomisés : la réascension est moindre chez eux.

Influence des autres glandes.

1°) L'épiphyse jouerait un rôle non discutable dans la calcification pour les uns ; pour les autres, ce rôle est dévolu à l'hypophyse.

2°) Le pancréas par l'insuline, les extraits ganglionnaires provoqueraient des modifications de la calcémie et de la phosphatémie.

3°) Le placenta : d'après Rossi, l'injection parentérale d'extraits aqueux du placenta humain déterminerait de l'hypocalcémie.

II. — LES VITAMINES

Si l'on a parlé de troubles dans le métabolisme du calcium, avec signes de rachitisme dans l'avitaminose A ; si, récemment, dans le scorbut (avitaminose C), on a signalé des troubles de la calcémie et de la calcification, il s'agit là de notions tout à fait secondaires. Il existe une vitamine : la vitamine D (Stérols irradiés) dont le rôle est fondamental dans les phénomènes que

nous exposons. Nous étudierons son influence, par manque, puis par excès.

1°) L'absence de vitamine D : Rachitisme et vitamine D.

Ce n'est qu'un très bref aperçu que nous donnons de cette question ; les travaux publiés, les études si précises de MM. Mouriquand et Leulier, de leurs élèves, les thèses qu'ils ont inspirées, leurs mémoires au congrès Français de Médecine à Liège, en 1930, nous dispensent d'insister sur les travaux qui mettent en évidence le manque de vitamine D sur la calcification.

Nous serons donc volontairement très bref.

La carence solaire ou toute cause provoquant la carence en vitamine D produit le rachitisme. Nous allons étudier rapidement l'influence de la déficience en vitamine D sur la calcémie, sur le squelette, et son influence palliative lorsqu'elle est ajoutée à des régimes carencés

A. CARENCE EN VITAMINE D ET CALCÉMIE.

Goldblatt, dans un ouvrage très documenté, rapporte les modifications dans les éléments minéraux du plasma trouvées chez les rachitiques par les différents auteurs. A l'unanimité des chercheurs, la baisse du taux du phosphore inorganique du sérum est reconnue (elle peut aller jusqu'à 7 à 10 mgr. par litre au lieu de 30). En ce qui concerne le calcium, les avis sont plus partagés ; beaucoup d'auteurs donnent des chiffres normaux, un

grand nombre, des chiffres abaissés, et même très abaissés (jusqu'à 50 ou 60 mgr. par litre). Très récemment, Elvehjem et Kline passent en revue (1933) les travaux des différents chercheurs (Steinbock, Hart, Jones et Black, Acherson, Blisch et Musehl, Hughes, Heller, Hunter et Thomson, Mac Farlan...), et constatent les résultats très dissemblables qui sont donnés. Eux-mêmes, étudiant le Ca et le P des poulets rachitiques, concluent à une grosse baisse de ces deux éléments. Notons enfin que chez la plupart des enfants rachitiques étudiés par Mouriquand et Leulier, le taux du Ca est sensiblement normal ; celui du P est très diminué (Mouriquand, Leulier). De toute façon, si le rapport Ca/P est élevé, le p (pi) est élevé également, ce qui traduit, au niveau du sang, la décalcification qui se produit au niveau de l'os.

On a essayé de mettre en évidence la fraction du Ca et du P sérique touchée dans le rachitisme. Benjamin et Hess estiment que la fraction du P ionisé est diminuée et Howland signale un fait semblable. En ce qui concerne le Ca, Benjamin estime que la diminution porte sur le complexe calcique non ionisé diffusible. Ces faits sont très critiqués, et l'on ne peut en tenir compte. L'addition au régime rachitigène d'ergostérol irradié élève le taux du P et du Ca sérique.

B) CARENCE EN VITAMINE D ET CALCIFICATION.

On sait que dans le rachitisme expérimental on observe une grosse décalcification osseuse, surtout marquée dans la zone diaphyso-épiphysaire. Ces modifica-

tions sont contrôlables par la radiographie. Macroscopiquement, elles se caractérisent par de la tuméfaction des épiphyses facilement entamées par le bistouri ; histologiquement, il existe une production anormale du tissu ostéoïde, de l'hypertrophie de la substance cartilagineuse, une vascularisation intense de la zone spongieuse. Il n'y a pas d'altération nette de la moëlle osseuse. (Mouriquand, Leulier, *Congr. Méd. Français*, Liège, 1930, p. 44).

Etude chimique des os rachitiques.

Leur teneur en eau (d'après Mouriquand, Leulier) est très forte proportionnellement à leur poids sec : 40 % au lieu de 15 %. Leurs cendres totales sont réduites : 8 % au lieu de 40 %. Le Ca et le P sont diminués :

CaO = 4,2 au lieu de 22 %

P²O⁵ = 12 au lieu de 18 %

Des résultats analogues ont été trouvés par Benjamin, Bogert et Hastings, Elvehjem et Kline, Shelling. Si les résultats trouvés diffèrent un peu, cela dépend de la méthode employée (cf. chap. I). De toute façon, la déminéralisation est indiscutable.

Citons encore une analyse de Vierhordt :

	<i>Tibia normal</i> (lapin)	<i>Tibia rachitique</i>
Substance minérale	65,32 %	33,64 %
Substance organique	34,68 %	66,64 %
Ca des cendres	57 %	36 %

D'après Robison, la phosphatase de l'os rachitique serait beaucoup plus active (1932).

Mellanby mit en évidence un facteur exerçant une action opposée à celle de la vitamine D, il le nomme anti-vitamine D. De jeunes chiens soumis à un régime riche en vitamines D peuvent être rendus rachitiques lorsqu'on leur fait ingérer une ration de céréale. Green et Mellanby obtinrent des résultats analogues sur le rat. Holst, Mirvisch, en 1930, purent extraire ce facteur. Son injection amène une chute de 30 % de la calcémie en 24 ou 48 heures. Mirvisch note que des quantités excessives d'ergostérol irradié agissent comme l'anti-facteur.

Notons dès à présent, ainsi que l'a montré Pfaumdlers depuis longtemps, que le rachitisme expérimental ne correspond pas au rachitisme clinique. Dans le premier le trouble réside essentiellement dans la non précipitation de calcium sur l'os. L'élévation du p(PI) explique le phénomène.

Nous avons essayé d'extraire le collagène d'os de rat rachitique qui nous ont été fournis par M. le Professeur Mouriquand. Nous avons obtenu ce collagène mais en très faible quantité et nous avons été frappé par la facilité avec laquelle il s'hydrolysait.

2°) L'hypervitaminose D.

Il s'agit d'une notion fort récente mise en évidence par Pfannenstiel en 1927. L'influence de l'ergostérol irradié donné en excès, mais à doses modérées, sur la calcification et la calcémie a été démontrée pour la première fois par Hess et Lewis en 1928. Depuis, les travaux se sont succédés en grand nombre.

A) HYPERVITAMINOSE D. CALCIFICATION ET CALCÉMIE.

a) *Travaux de Hess et Lewis.*

Ces chercheurs ont minutieusement suivi le taux de la calcémie et de la phosphatémie chez les enfants rachitiques traités par l'ergostérol irradié, ainsi que chez les enfants sains traités préventivement. Chez tous, ils ont constaté l'élévation de la calcémie et de la phosphatémie. Cette hypercalcémie s'accompagne d'une précipitation locale de Ca dans le squelette, intéressant d'abord les os du crâne, puis les épiphyses ; souvent la calcification dépasse le but et les épiphyses sont éburnées. Lorsque les doses sont trop fortes, on peut noter d'autres symptômes graves : fièvre, vomissements, somnolence, troubles digestifs, diarrhée. Levaditi et Li Yuan Po, MM. Policard et Paupert-Ravault ont montré que des précipitations calciques se faisaient dans les différents organes : artères, intestin, reins, etc. Depuis, de nombreux auteurs ont confirmé en partie ces données.

b) *Hypervitaminose D et calcification.*

Alors que Nicholas et Kuhn (1932), Steenbock, Kletzien et Halpin, Gordon et Lieberman, etc. confirment les assertions de Hess et Lewis et montrent que chez le rat l'ergostérol irradié augmente les cendres des animaux ainsi traités de 5 à 10 % et que le pourcentage du Ca précipité dans les eaux est nettement augmenté, d'autres résultats très divergeants nous sont également parvenus d'Amérique. Light, Miller et Frey affirment

que l'extrait de vitamine D provoque une déminéralisation du squelette. D'après Hess, Benjamin et Grossi, l'hypervitaminose D provoquerait une raréfaction très marquée de l'os ; enfin, certains auteurs ont même affirmé avoir pu reproduire des lésions analogues à l'ostéite fibro-kystique de Recklinghausen par injection d'ergostérol irradié.

Shelling explique ces différents résultats. L'injection quotidienne de doses peu élevées de Viostérol provoque une hyperminéralisation de l'os ; mais des doses trop élevées sont toxiques, elles agissent sans doute sur la matrice organique et empêchent le dépôt calcaire ; cependant des calcifications métastatiques dans les autres tissus peuvent se produire.

c) Hypervitaminose D et calcémie.

L'accord est complet sur ce point. L'administration quotidienne d'ergostérol irradié amène une hypercalcémie qui peut être considérable. Hess et Lewis citaient des chiffres de 150 et 153 mgr. par litre. Depuis, on a signalé des hypercalcémies beaucoup plus élevées, jusqu'à 250 mgr. et plus. L'hyperphosphatémie est non moins constante, le taux du P inorganique du sérum peut s'élever à 120 et 150 mgr. par litre. Mais ce sont là des chiffres extrêmes. On trouve dans les travaux américains, en moyenne une hypercalcémie de 160 à 170 mgr., une hyperphosphatémie de 80 à 90 mgr.

On a cherché à mettre en évidence la fraction du Ca du sérum sur laquelle portait l'augmentation ; les données sont très confuses. Benjamin et Hess, après avoir écrit que cette augmentation portait sur le Ca lié aux

protéines, publient trois mois plus tard que toutes les fractions du calcium sont également augmentées. De même que pour la parathormone, ce sont là des tentatives d'explication bien confuses, les contradictions sont très nombreuses et aucune expérience n'est évidente.

B) LES SOURCES DE L'HYPERCALCÉMIE.

Les avis sont partagés : d'un côté, Johnes, Rapoport et Hodes, prétendent que la source de cette hypercalcémie correspond à une plus grande absorption du calcium et du phosphore de la nourriture.

Benjamin affirme au contraire que l'hypercalcémie vient d'une perte de calcium des os et des tissus. Donnant des régimes sans calcium ni phosphore, il remarque cependant une hypercalcémie marquée (160 mgr.). Injectant une solution de bicarbonate de soude dans les veines de l'animal en expérience, il abaisse la calcémie et provoque un dépôt de calcium dans les tissus.

Ces expériences ne prouvent pas que la vitamine D provoque une hypercalcémie en retirant le calcium tissulaire.

1°) D'abord, comme le font remarquer Hodes et Rapoport, les régimes carencés en éléments minéraux de Benjamin et Hess, contenaient cependant un peu de calcium.

2°) L'injection intra-veineuse déposant le calcium dans les tissus ne prouve pas que ce calcium en provienne, lors de l'hypervitaminose. Il y a modification de l'équilibre ionique; ce qui est à la base de la précipitation.

Aussi, la majorité des auteurs se rattache à l'interprétation de Hodes et Rappoport. L'administration d'ergostérol irradié dans le rachitisme ne provoque-t-elle pas une précipitation si évidente de sels de chaux dans les os que l'on ne puisse douter de l'affirmation des auteurs précédents ? D'autre part, Zucker et Matzner ont constaté que l'huile de foie de morue tend à acidifier le milieu intestinal des rachitiques, milieu qui est trop alcalin ; or l'on sait que l'acidité intestinale favorise au plus haut point l'absorption calcique.

C) MÉCANISME DE L'ACTION DE L'ERGOSTÉROL.

Hess et Lewis ont prétendu que la vitamine D agissait en excitant les parathyroïdes. D'autres auteurs ont affirmé le contraire. Pour certains dans le rachitisme, la décalcification proviendrait de ce que la carence en vitamines ne neutraliserait plus l'action décalcificatrice des parathyroïdes. Ce ne sont là que des hypothèses. Il faut se reporter aux faits chimiques eux-mêmes. Dans l'hypervitaminose D, le calcium et le phosphore sont augmentés, le p (Pi) est abaissé. Or l'on sait, que cet abaissement facilite la précipitation calcique au niveau de l'os. Dans la carence en vitamine D, le calcium et le phosphore sont abaissés. Le p (Pi) est élevé ; il s'en suit que la précipitation calcique au niveau de l'os ne s'effectue presque plus.

Très récemment, on aurait obtenu, à partir de la vitamine D cristallisée, un corps qui aurait la propriété d'augmenter phosphatémie et calcémie dans des proportions considérables (A.T. 10).

Recherches personnelles.

Nous avons donné à des lapins sous forme de viostérol ou de stérogyl quotidiennement de la vitamine D ; nous avons ainsi réalisé en collaboration avec MM. Pauptert-Ravault et Revol un état d'hypervitaminose. Nous ne nous occuperons ici que des conséquences sur l'os et sur la calcémie et la phosphatémie.

Lapin IV.

Intoxiqué du 21 février au 9 juillet 1934, par XL gouttes de stérogyl, par jour (voie buccale).

Gros amaigrissement, chute de poids, apathie, diarrhée, vomissements. Pendant toute la durée de l'intoxication, le taux d'urée sanguine est peu augmenté, cependant, le 9 juillet, l'urée était de 1 gr. 10 ‰.

A l'autopsie : grosse calcification du système artériel.

Ca	=	0,171 ‰
P	=	0,079 ‰
p(PI)	=	22,75 ‰
Ca/P	=	2,16 ‰

Lapin V.

Du 15 février au 15 juillet : L gouttes de stérogyl.

En juin :

Ca	=	0,240 ‰
P	=	0,084 ‰
p(PI)	=	

Sacrifié le 5 juillet : grosse calcification de l'aorte, de l'artère rénale et des artères iliaques — congestion rénale.

Etude de l'os. — Prise d'un morceau de diaphyse fémorale.

Eau = 9 %

Substances organiques = 24

Substances minérales = 67 %

Cendres

= 2,79

Substances organiques

En résumé, on constate chez ce lapin une diminution notable de l'eau dans les tissus osseux (9 % au lieu de 20 %, témoin). Le taux de la substance organique n'a pas changé, mais on note une augmentation très nette des sels de calcium : 54 % au lieu de 43 (témoin). D'autre part, la calcémie, la phosphatémie sont très augmentées et le p(Pi) est abaissé.

Lapin X.

Reçoit du 30 avril au 12 juillet : CL gouttes de stérogyl par jour.

Etude de l'os :

Eau = 12 % — Substances organiques = 25 % — Cendres = 63 % — Ca des cendres = 56 % — Cendres/Subst. organiques = 2,52.

A l'autopsie : infarctus rénal droit.

Le 10 juillet : Urée = 0,35 ‰

Ca = 0,160 ‰

Lapin 90. — Avant toute expérimentation :

23 octobre :

$$\begin{array}{llll} \text{Ca} & = & 0,109 \text{ ‰} & \text{P} & = & 0,05 \text{ ‰} \\ \text{p(PI)} & = & 23,55 & \text{Ca/P} & = & 2,18 \end{array}$$

10 novembre :

$$\begin{array}{llll} \text{Ca} & = & 0,176 \text{ ‰} & \text{P} & = & 0,072 \text{ ‰} \\ \text{Protéines du sérum} & = & 67,31 \text{ ‰} & \text{Ca/P} & = & 2,44 \\ & & \text{p(PI)} & = & 22,78. \end{array}$$

D) PARATHYROÏDES ET VITAMINE D.

Que d'opinions contradictoires ; que de théories opposées, basées souvent sur de simples hypothèses, ont été invoquées à ce sujet !

Nous ne saurions jamais citer toutes les références consultées. Nous classerons seulement un certain nombre d'assertions pour pouvoir développer, d'après nos résultats, les conceptions que l'expérimentation nous a imposées.

— Les uns signalent un antagonisme entre parathormone et vitamine. Selye rapporte que la vitamine D empêche les troubles osseux produits par la parathormone, troubles qu'il comparait au rachitisme.

Hoff, Horman, etc., soulignent que la calcification de l'os par la vitamine D est inhibée par les extraits parathyroïdiens. De Mole et Christ, Johnes et Rapoport, simultanément, ont rapporté qu'il était possible de main-

tenir des animaux parathyroïdectomisés dans des conditions apparemment normales pendant quelques mois, en injectant de la parathormone.

Scholl, Benett, etc., après injection de parathormone, augmentent le processus rachitique dans les métaphyses de rats soumis à un régime rachitigène.

— Les autres ne rapportent pas cet antagonisme. Au contraire, ils notent une communauté d'action entre parathormone et vitamine D.

Johnson donne de l'ergostérol irradié à des animaux qui reçoivent de la parathormone et obtient très rapidement une ostéite fibreuse, plus facilement que chez l'animal ayant reçu simplement de la parathormone.

Ascher et Jones, sur 21 rats parathyroïdectomisés, ne peuvent relever l'abaissement de la calcémie par un traitement prolongé à l'ergostérol irradié.

En réalité, il ne peut y avoir d'antagonisme au sens strict du mot entre parathyroïde et vitamine D. Parfois, l'action apparaît synchrone comme dans le travail de Johnson. C'est qu'en effet, la parathormone et la vitamine D agissent sur la calcémie et sur l'os d'une façon différente.

1°) Alors que l'ergostérol augmente la calcémie, non en retirant le calcium des tissus, mais en facilitant son absorption, la parathormone retire le calcium tissulaire.

2°) L'hypervitaminose D s'accompagne d'hypercalcémie et d'hypophosphatémie. L'hyperparathyroïdisme s'accompagne d'hypercalcémie et d'hypophosphatémie. Le p (Pi) n'est pas le même dans les deux cas : il tend

à s'abaisser par excès de vitamines; au contraire, les extraits parathyroïdiens s'ils modifient le taux du calcium et du phosphore, le rapport Ca/P modifie peu, pour ainsi dire pas, le p (Pi).

3°) L'hyperparathyroïdisme agit non seulement sur les éléments minéraux du plasma, mais encore il agit sur la matière protéique de l'os.

4°) Les apparences d'antagonisme sont purement fortuites. On ne peut pas parler d'antagonisme plus que de synchronisme.

Le régulateur nerveux.

Depuis longtemps, on a étudié (Loeb, 1900) l'action du calcium sur le système nerveux ; mais l'intervention du système nerveux sur la calcémie et la calcification osseuse a été peu recherchée.

1) Action sur la calcémie.

Selon Berg, Hess, Schérmann, le calcium du sang diminue après section du nerf splanchnique et du plexus coeliaque augmente après section des vagues.

Selon Urechia et Popoviciu, après sympathectomie le calcium sanguin diminue du côté opposé, mais après 5 mois les différences s'atténuent. Par contre, chez les hémiplegiques en état de contracture, chez lesquels il y a excitation du sympathique, le calcium serait plus abondant du côté malade que du côté sain. Dans les hémiplegies flasques où le sympathique est paralysé, le

calcium est diminué dans le sang circulant du côté paralysé.

Nous rapportons ici, un certain nombre de faits.

a) Chez un chien de 10 kg. environ, il fut pratiqué une sympathectomie lombaire (*) :

Avant l'opération :	Ca = 0,102 ‰
	P = 0,033 ‰
Et 5 jours après l'intervention :	Ca = 0,076 ‰
	P = 0,044 ‰

b) Chez plusieurs malades, des dosages de Ca et P furent pratiqués avant et après sympathectomie :

On retrouvera dans les observations que nous publions dans la dernière partie de notre travail, les résultats de ces dosages. Ils nous montrent qu'après sympathectomie le calcium est toujours abaissé notablement, le phosphore inorganique du sérum augmenté.

Il semblerait donc que la sympathectomie à elle seule abaisserait le taux de la calcémie, augmenterait celui de la phosphatémie. Toutefois, Grégoire, Lyonnet et Delavenne ont montré que la moindre sympathectomie péri-fémorale amenait les mêmes phénomènes ; Ménegaux, Guillaumin et Pergola, dans une note à la Société de Chirurgie des Hôpitaux de Paris (2 mai 1934), signalent

(*) Récemment, Rossi, en Italie, (octobre 1934), vient de publier un important travail. D'après lui, la sympathectomie chez le chien provoquerait des variations insensibles.

une hypocalcémie dans les 24 heures qui suivent l'intervention chez 10 opérés sur 11, ces interventions étaient variées : appendicite, hernie... ; dans les 15 jours qui suivaient, le taux de la calcémie revenait à la normale. On ne peut donc tenir compte de ces différents résultats et affirmer que la sympathectomie agit sur la calcémie. Cependant, le système nerveux, par le sympathique, mobilise les glandes à sécrétion interne (Gley). Il est certain que le sympathique doit agir sur les parathyroïdes, comme sur les surrénales ou le corps thyroïde. Mais, de plus, les parathyroïdes, augmentant la calcémie lorsqu'elles fonctionnent par excès, agissent également sur le sympathique. Ce fait a été très bien indiqué récemment dans une thèse lyonnaise (Thèse Henry, novembre 1934).

II) *Action sur la calcification.*

Claude Bernard, coupant les nerfs des ailes des pigeons, ne constate pas de troubles osseux ; cependant, la clinique nous montre, à la suite des poliomyélites de l'enfance, des troubles de la calcification. Les physiologistes n'ont pas éclairci la question. Toutefois, le sympathique, modifiant les conditions de circulation au niveau du tissu osseux, agit certainement sur le processus de la calcification. Un autre fait à signaler : l'amélioration de certains cas de polyarthrite ankylosante après sympathectomie.

De l'étude de ces différents régulateurs, on en retire les notions suivantes :

Parmi les glandes à sécrétion interne, il en est une : la

parathyroïde, dont le rôle est capital. Par rapport à elle, celui des autres glandes est minime. Elle augmente la calcémie, diminue la phosphorémie, augmente l'écart entre le taux du calcium et celui du phosphore ; le rapport Ca/P peut atteindre 15 et plus. Mais le produit des ions Ca et PO_4 ne varie pas. Les conditions de la précipitation calcique, selon la théorie de Holt, La Mer et Chown, Hastings, Murray et Sendroy, ne sont pas changées. Il faut donc supposer que l'un des autres facteurs est touché. Les phosphatases le sont peut-être, mais cette supposition ne peut satisfaire entièrement. La constatation anatomo-clinique et radiologique d'une part, histologique d'autre part, de grand désordre dans le substratum organique, pousse à croire que la parathormone agit directement sur la matière organique de l'os. La constatation de la diminution du pourcentage de cette matière organique dans les os de lapins hyperparathormonisés, nous rallie à cette conception.

L'étude du collagène, extrait à partir de l'os, ne nous permet pas, avec les moyens bio-chimiques que nous possédons actuellement et que nous avons utilisés, de mettre en évidence une modification de cet élément. Mais, de toute façon, il est possible que le collagène, que nous obtenons par la méthode de solubilisation de l'osséine dans l'acide formique anhydre, soit normal ; ce qui ne veut pas dire que le collagène et la matière organique ne soient pas touchés par la parathormone.

Les ovaires, parmi les glandes à sécrétion interne, ont un rôle qu'on ne saurait nier. D'après nos expériences, nous avons vu que chez les lapines ovariectomisées, la calcémie était augmentée, la phosphatémie

abaissée, le p (Pi) est normal, mais le rapport Ca/P est augmenté. Les constatations cliniques des troubles osseux, après la ménopause, mettent en évidence le rôle de ces glandes sur le squelette.

Les autres glandes peuvent agir sur la morphogénèse, comme le thymus, la thyroïde, etc., mais il ne semble pas qu'il y ait des modifications du processus de calcification lui-même. Les conditions de précipitation calcique sont inchangées, ces glandes n'influent jamais d'une façon nette et persistante sur le taux de la calcémie.

Il existe donc une glande dont le rôle est capital ; il existe aussi une vitamine : la vitamine D dont le rôle est non moins considérable. L'étude de l'hypo et de l'hypervitaminose D nous a montré l'influence de la vitamine D sur les phénomènes de calcification. Sa carence amène un abaissement du p(Pi) : le calcium et le phosphore du sérum étant très diminués. Les modifications dans le rapport Ca/P ne sont pas comparables à celles provoquées par la parathormone.

Il n'y a pas lieu de comparer ou d'opposer l'action de la vitamine et l'action de l'hormone ; elles agissent différemment. On a eu le tort de faire un rapprochement entre elles deux, en se basant sur le fait que toutes deux provoquent une hypercalcémie. Or, la source de cette hypercalcémie est entièrement différente. On ne peut les opposer, car l'une ne neutralise pas l'action de l'autre. Il s'agit de deux éléments biologiques différents, leur mécanisme d'action n'est pas le même ; les conséquences de leur administration ne sont pas les mêmes.

CHAPITRE IV

Calcification et Calcémie

Une chaîne liquide existe dans l'organisme depuis le sérum jusqu'au tissu osseux en passant par la lymphe interstitielle. Il en résulte une solidarité chimique entre ces trois tissus : le sang, la lymphe, l'os. Cette dépendance varie d'ailleurs selon le facteur de la calcification que l'on considère.

1° Toute anomalie du support protéique de l'os n'a pas de répercussion que nous sachions présentement déceler sur les protides du sérum.

2° Les anomalies des phosphatases au niveau de l'os ne peuvent pas être appréciées par les variations de la phosphatasémie. Tout semble se passer comme si les phosphatases osseuses étaient libérées par toutes les destructions osseuses. Leur augmentation dans le sang

n'est spécifique d'aucun trouble particulier de la calcification. Toute décalcification les augmente.

3° Toute variation du p (produit ionique) du sérum est capable de se répercuter jusqu'au tissu calcifié. Certes, le p (produit ionique) n'est pas exactement le même au niveau du sérum et au niveau de la lymphe. Le simple équilibre de Donnan qui s'établit entre le sérum et la lymphe, par suite de leur teneur très inégale en protéines, suffit à en rendre compte. Cependant, par suite des lois de la diffusion et de l'osmose, toute variation ionique du sérum se répercute par la lymphe jusqu'au contact même du tissu osseux. Cette variation des ions modifie en ce point le p (produit ionique). L'étude du p (produit ionique) du sérum peut donc nous renseigner sur l'état du p (produit ionique) du tissu péri-osseux.

4° Enfin, un trouble de la sécrétion parathyroïdienne, régulatrice principale de la calcification, est capable d'atteindre le support protéidique de l'os. Celui-ci libère des ions calcium et des ions phosphate.

Ces ions s'éliminent en passant par le sang. Ils provoquent au niveau du sérum des troubles chimiques qui témoignent de la dysparathyroïdie. Une augmentation du rapport Ca/P est le plus significatif de ces troubles.

Il est de la plus grande utilité pour le clinicien de savoir comment se traduisent au niveau du sang les troubles qui, au niveau de la lymphe périossseuse (lymphe du milieu en voie de calcification) ralentissent la

précipitation calcique. Nous reprendrons chacun des éléments de la calcification et nous chercherons leur traduction sanguine. Nous avons vu que ces éléments sont au nombre de trois : l'état ionique — le substratum organique — le facteur diastasique.

1°) L'état ionique.

Nous avons vu dans le premier chapitre que le produit des ions calcium et phosphate conditionnait la précipitation des phosphates de calcium. Il s'exprime pratiquement par le p (produit ionique). In vivo, il est impossible de déterminer le p (produit ionique) du milieu interstitiel. Bigwood rapporte que le taux du calcium tissulaire ionisé est de 2 mgr. comme dans le sang. Les données à ce sujet restent cependant imprécises. On ne connaît pas le pH du milieu interstitiel ; on ignore ses modifications au moment de la précipitation calcique. Cependant, on connaît les rapports constants qui existent entre le sang et la lymphe des espaces interlacunaires d'Achard. Les travaux de Starling sur la lymphe et les substances lymphagogues montrent que, par suite de la pression osmotique, un équilibre physico-chimique tend à se réaliser à tout moment entre les fluides de l'organisme. Mais, même connaîtrait-on les caractères et les constantes physico-chimiques de la lymphe interstitielle, nous ne connaîtrions pas les caractères et les constantes de cette lymphe qui baigne le tissu osseux en voie de calcification. La lymphe interstitielle des espaces lacunaires n'est qu'un intermédiaire de la

chaîne qui relie les constantes physico-chimiques du sang à celles de cette lymphe qui entoure l'os en formation.

Différents auteurs américains ont tenté d'étudier les rapports entre le calcium sérique et le calcium des divers liquides de l'organisme : liquide céphalo-rachidien, ascite, œdème, après injections de parathormone. Leurs résultats sont contradictoires ; de plus, ils s'adressaient à des cas pathologiques où d'autres facteurs intervenaient. Enfin, leurs résultats sont très incomplets ; ils ne fournissent souvent que le taux du calcium et non celui du phosphore.

Nous apportons ici quelques résultats personnels :

1°) Nous avons comparé le sang veineux, le sang artériel, la lymphe du canal thoracique d'un cheval normal :

	Phosp.	Ca	p(PI)	pH
Sang veineux	0,0278 ‰	0,108 ‰	24,21	7,33
Sang artériel	0,0285 ‰	0,112 ‰	24,15	7,33
Lympe.	0,0243 ‰	0,093 ‰	24,52	7,33

2°) Liquide d'œdème de cirrhose :

P = 0,054 ‰ Ca = 0,0936 ‰ p(PI) = 24,49

3°) Liquide d'œdème de stase (symphyse du péricarde) :

Ca = 0,064 ‰ P = 0,045 ‰ p(PI) = 24,87
Protéines totales = 3,44 ‰

4°) Liquide d'œdème de néphrite :

Ca = 0,088 ‰ P = 0,011 ‰

Ces résultats ne correspondent pas évidemment à ceux de la lymphe interstitielle. Tout d'abord, si par leurs caractères, le liquide d'œdème ou le liquide d'as-

cite sont voisins de la lymphe, ils sont avant tout des liquides pathologiques. La lymphe canaliculaire ramène au sang les produits de déchet des espaces lacunaires d'Achard, mais le taux des protéines n'y est pas le même que dans la lymphe tissulaire. Enfin et surtout le canal thoracique reçoit en outre, par les chylifères de Pecquet, une partie des éléments provenant de l'absorption intestinale. Somme toute, on n'a pas d'éléments qui permettent d'établir un rapport certain entre la lymphe tissulaire et le sang expérimentalement, en ce qui concerne le $p(\text{Pi})$. Mais même, aurait-on ces données quelles seraient insuffisantes car la lymphe tissulaire en général est très vraisemblablement différente de la lymphe du milieu qui se calcifie. Un certain rapport existe cependant entre le p (produit ionique) du sérum sanguin et le p (produit ionique) de cette lymphe du milieu en voie de calcification ; l'expérience de Schipecy, Kramer et Howland permet d'affirmer le phénomène puisqu'un os de rat rachitique trempé dans du sérum normal se calcifie, alors que ce même os trempé dans du sérum de rachitique n'est pas le siège d'une précipitation calcique. L'expérience de Cretin confirme également cette conception : cet auteur a montré que des injections de sels de calcium et particulièrement de phosphates de chaux activaient la calcification d'une fracture expérimentale pratiquée chez le lapin.

En pratique, il faut donc admettre une interrelation étroite entre le $p(\text{Pi})$ du sang, celui de la lymphe interstitielle et surtout celui de la lymphe du milieu en voie de calcification. Toute diminution du produit des ions dans le sérum sanguin amenant une diminution paral-

lèle du milieu interstitiel se traduit par une moindre tendance à la précipitation calcique. On pourra apprécier l'influence du facteur ionique sanguin sur la calcification en étudiant le p (produit ionique) du sérum. Nous avons admis que normalement le p (produit ionique) était de 24 (formule de Holt, La Mer et Chown). Toute élévation du p (produit ionique) sérique signifiera donc une diminution de l'aptitude de l'os à se calcifier. Tout abaissement sera suivi d'une précipitation calcique. Cependant, il ne faut tenir compte, pour éviter toute cause d'erreur, que de modifications assez larges : au-dessous de 23 pour la calcification, au-dessus de 24,5 pour la décalcification. De telles modifications se retrouvent très nettement dans l'hyper et l'avitaminose D.

2°) Etat du collagène.

1) Il n'existe pas de modifications sanguines traduisant directement l'atteinte du collagène ou de la matrice organique de l'os dans les différentes affections osseuses : maladie de Recklinghausen, polyarthrites.

On ne note pas de modifications du taux des protéines ni de modifications du complexe protéino-calcique. Ce n'est donc pas dans l'élément organique du sérum qu'il faut chercher une traduction du trouble de la matière protéique.

2) Cependant, la modification qui porte essentiellement sur la matière protéique peut se traduire indirectement au niveau du sérum dans toutes les affections qui sont les conséquences d'un hyperfonctionnement.

parathyroïdien. Nous avons vu chez nos lapins hyperparathormonisés l'existence de modifications portant non seulement histologiquement mais encore chimiquement sur la matière organique ; en effet, le taux des substances protéidiques de l'os est diminué dans des proportions plus considérables que le pourcentage du calcium. La conséquence de cette action de la parathormone sur le squelette est, en même temps qu'une ostéolyse, une décalcification ; le taux du calcium et du phosphore organique présente un écart considérable. Cet écart traduirait ces lésions fondamentales de la substance elle-même. C'est ainsi que le rapport Ca/P traduit par son élévation au niveau du sang l'atteinte de la substance organique au niveau de l'os. Cependant, de telles modifications dans le rapport Ca/P ne traduisent pas toujours les troubles portant sur le tissu osseux lui-même. On peut supposer peut-être qu'il n'est intéressant de l'étudier qu'à un certain stade bien déterminé de la modification osséuse. D'autre part, il faut un remaniement considérable de l'os pour constater une grosse élévation de ce rapport qui peut atteindre 15 et plus, alors que normalement il n'est que de 3.

Somme toute, il n'y a que des témoins indirects du facteur protéidique dans le sang.

3°) Le facteur diastasique.

La diastase de Robison, que nous avons étudiée au niveau de l'os, l'a été également dans le sang (Robison, Soames, Kay, Martland.....). Elle existe à l'état normal

et peut hydrolyser un mono-hexose phosphate qui existe dans le sang. Elle l'hydrolyse spécifiquement. Lorsque son abondance augmente au niveau du sang, du phosphore est libéré.

Or, au niveau des cals de fractures, dans certaines affections, cette diastase est très abondante. Certains auteurs : Martland, Hansman, Robison dans le sang laqué, Demuth dans le sérum, ont constaté son hyperactivité au cours des maladies entraînant des lésions du squelette; Demuth observa que le sérum des enfants rachitiques est sept fois plus riche en phosphatase que celui des enfants normaux, Kay fit de semblables constatations dans certaines affections, telles que la maladie de Recklinghausen, la maladie de Paget, l'ostéomalacie, etc...

Cette augmentation de la phosphatase plasmatique fut considérée par Kay comme un phénomène secondaire lié aux variations de la phosphatase osseuse dans le sens du passage éventuel de celle-ci dans le sang. Hunter, Keynes et Taylor, Rankin et Priestley, Albright, Aub et Bauer, donnent des résultats impressionnants. Quick et Hunsberger, dans une ostéite fibro-kystique, observèrent que la phosphatase plasmatique avait augmenté de 4 à 5 fois au-dessus du taux normal. Une augmentation fut encore notée dans le rachitisme floride par Roberts, Smith et Maizels, et dans l'ostéite déformante par Kay, Levy, Simpson et Riddoch, Reyilly et Race, Hunsberger et Ferguson, constatèrent que la phosphatase du plasma était augmentée presque du double au cours du rachitisme, de la maladie de Paget, des kystes osseux, etc. Egidi et Rowinski ne signalèrent

aucune variation de la phosphatase plasmatique dans la tuberculose osseuse. Smith, Maizels, Hunsberger et Ferguson purent constater que la phosphatasémie, normale au début des fractures osseuses, augmentait ensuite pendant la formation du cal pour redevenir normale après la consolidation. Austoni et Coggi, très récemment, ont déterminé la phosphatase du plasma dans certaines affections des os (tumeurs, processus inflammatoire, ostéite déformante). Elle n'a été trouvée considérablement augmentée que dans la maladie de Paget. Son augmentation est faible et inconstante à l'époque de la consolidation du cal. En outre, ces auteurs constatèrent une augmentation évidente dans les cas d'ictères par occlusion.

Austoni et Coggi concluent ainsi : La phosphatase du plasma paraît étroitement liée au métabolisme du calcium et du phosphore, et l'hyperphosphatasémie peut être considérée aussi comme un symptôme précoce des altérations de ce métabolisme.

Aujourd'hui, à la suite de ces travaux, on pourrait se demander si, de l'étude de la phosphatasémie, on ne pourrait tirer des renseignements précieux pour la clinique, dans les troubles de la calcification. Qu'en est-il ?

1°) La première critique que l'on puisse émettre est que le dosage ne nous dit pas si l'activité de la phosphatase est consécutive à la modification osseuse ou si c'est elle qui la produit. D'autant que d'autres facteurs (rénal, hépatique) interviennent dans la phosphatasémie.

2°) Le deuxième reproche, à notre sens le plus grave, concerne le dosage lui-même. En effet, différentes méthodes ont été données : Jenner et Kay, Kay, Bodansky. Nous les avons toutes étudiées ; on peut évidemment obtenir des résultats, mais ils sont sans rigueur scientifique. Nous n'avons pas la place dans cette thèse de développer la critique des dosages de la phosphatase dans le sérum. Cette critique a du reste été fort bien faite par Fleury. Il est très difficile d'apprécier l'hyperactivité de la phosphatase. D'après Kay, l'unité de phosphatase du plasma correspond au fait suivant : 1 cc. de sérum libère 1 mgr. de phosphate inorganique à $\text{pH} = 7,6$ à 38° , en 48 heures, lorsqu'il agit sur du glycéro-phosphate en excès. On a été forcé d'utiliser des tampons — modification de Kay, 2^e méthode (Bodansky, 1933). Ces méthodes ne sont pas satisfaisantes.

D'autre part, l'utilisation de méthodes colorimétriques pour le calcul du phosphore libéré n'apporte pas une sensibilité suffisante pour apprécier le phénomène.

En un mot, c'est un dosage long, délicat, encore inadapté à la clinique, qui ne donne pas de renseignements précis.

En résumé : L'analyse chimique du sang renseigne dans une certaine mesure sur les phénomènes qui se passent au niveau de l'os en voie de calcification. On a reconnu depuis longtemps que le dosage du calcium à lui seul était incapable d'indiquer une décalcification ou une recalcification du squelette. Mais ce dosage est cependant nécessaire. Il faut ajouter le dosage du phos-

phore inorganique du sérum. L'ensemble de ces deux dosages qui nous permettra de calculer :

1°) le p (produit ionique),

2°) le rapport Ca/P ,

nous indiquera si l'os se calcifie ou se décalcifie ; d'autre part, s'il existe un trouble d'origine parathyroïdienne. En certains cas, on pourra ajouter le dosage des protéines du sérum. La phosphatasémie, dans l'état actuel de nos connaissances, n'a qu'une valeur très restreinte.

CHAPITRE V

Les Dystrophies osseuses calciques

Avant de transposer nos données dans le domaine de la clinique, nous devons préciser les points suivants :

La symptomatologie, l'évolution spontanée, l'appréciation des effets des diverses thérapeutiques constituent pour le clinicien un problème que nous devons décomposer en plusieurs autres si nous nous plaçons au point de vue des mécanismes chimiques de la maladie.

Nous distinguons :

— Le problème de la décalcification et de la recalcification. Il dépend de l'équilibre des ions phosphates et des ions calcium. C'est celui que nous étudions ici.

— Les problèmes de la douleur, de la contracture musculaire, de la raideur articulaire. Ils ne dépendent pas de l'équilibre des ions phosphates et des ions calcium. Nous ne les étudions pas ici.

Les ostéopathies généralisées peuvent se ranger en plusieurs catégories :

1°. Dans une première classe, nous plaçons les affections qui s'accompagnent d'une augmentation du p (produit ionique) du sérum. Le trouble est très généralisé puisqu'il est déjà présent au niveau du sang. Les décalcifications multiples en sont les conséquences. L'anomalie qui nous sert de test est la cause même du symptôme osseux. On rencontre dans cette classe des maladies par carence : ostéomalacie par carence, rachitisme par carence. L'administration d'ergostérol irradié qui abaisse le p (produit ionique) doit provoquer une recalcification.

2°. Dans une deuxième classe, nous plaçons les affections qui s'accompagnent d'une augmentation importante du rapport Ca/P du sérum. Ce test est alors le témoin d'un état d'hyperparathyroïdisme. Son interprétation comporte quelques causes d'erreur que nous déterminons aussi exactement que possible. Il est donc par suite aisé de s'en préserver. Dans cette classe, entrent des affections d'aspect clinique assez varié où domine la maladie de Recklinghausen : affections que Lièvre a dénommé « ostéoses parathyroïdiennes ». Une intervention portant sur les parathyroïdes semble devoir provoquer la recalcification.

3°. Nous signalons des cas mixtes comportant à la fois une augmentation du p (produit ionique) et une augmentation du rapport Ca/P . Ces cas semblent devoir bénéficier de l'association des deux thérapeutiques :

administration d'ergostérol et intervention sur les parathyroïdes.

4° Peut-être pourra-t-on isoler plus tard un groupe qui comporte un abaissement du rapport Ca/P. Les quelques observations que nous rapportons ne nous permettent pas encore d'affirmer qu'il s'agit là de cas d'insuffisance parathyroïdienne relevant d'une opothérapie appropriée.

5° Enfin, dans le cadre des ostéopathies ne présentant aucune des anomalies sanguines que nous avons signalées, prennent place un grand nombre d'affections dont le mécanisme n'est pas encore défini. (Anomalies du support protéique dues à des troubles vasculaires ou nerveux, troubles locaux de la répartition des phosphatases ?) Il s'agit de problèmes non encore résolus.

Il existe, dans la pathologie osseuse, tout un groupe d'affections dont la pathogénie et l'étiologie restent inconnues. Les travaux les plus récents sur le rachitisme d'une part, sur les ostéoses parathyroïdiennes d'autre part, semblent cependant avoir classé certaines de ces maladies.

D'un côté, celles qui relèvent d'une viciation parathyroïdienne : et au premier chef, la maladie de Recklinghausen.

D'un autre côté, celles qui relèvent de l'avitaminose D, comme le rachitisme.

Entre ces deux groupes, se situe toute une série d'affections, dont la nosologie n'a pas encore été établie. Si les uns, par exemple, rattachent la maladie de Paget

à la maladie de Recklinghausen, les autres, au contraire, en font deux affections essentiellement différentes. Alors que certaines ostéomalacies semblent être proches du rachitisme, d'autres, au contraire, présentent des caractères semblables à ceux de l'ostéose parathyroïdienne. Mais le problème est encore plus complexe dès qu'il s'agit de polyarthrites ankylosantes, de rhumatismes chroniques, de spondyloses rhizoméliques etc.

La clinique est, à l'heure actuelle, insuffisante, en face de certains problèmes diagnostiques ; aussi, chirurgiens et médecins se sont-ils adressés aux biochimistes pour avoir un élément sémiologique qui leur permette de poser un diagnostic et surtout une application thérapeutique. Il semblait que du dosage du calcium sérique on pouvait obtenir des renseignements sur l'origine parathyroïdienne de certaines affections.

Depuis deux ans, sur la demande de nombreux cliniciens, le laboratoire de chimie biologique et médicale de la Faculté de Médecine s'est efforcé de satisfaire ceux-ci ; mais bientôt, l'aspect contradictoire des résultats obtenus incita M. le Prof. agrégé Enselman, à nous faire rechercher, sous sa direction constante, les éléments bio-chimiques de ces différentes maladies.

Nous avons étudié un grand nombre de dystrophies osseuses ; et nous croyons que deux éléments nouveaux peuvent servir à leur classification : le rapport Ca/P , et le p (produit ionique). Nous n'envisagerons pas l'étude clinique de celle-ci, de ces différentes dystrophies calciques ; nous ne ferons même pas un bref rappel symptomatique, pour alléger notre travail.

1° Nous étudierons les éléments bio-chimiques qui contribuent séméiologiquement à l'étude des dystrophies calciques.

2° Nous rapporterons une série d'observations qui étayeront les faits précédemment avancés.

I. — LES ÉLÉMENTS BIO-CHIMIQUES QUI CONTRIBUENT SÉMÉIOLOGIQUEMENT À L'ÉTUDE DES DYSTROPHIES CALCIQUES

Depuis longtemps, le clinicien a cherché, dans l'étude du métabolisme du calcium, une traduction des modifications osseuses. Tout d'abord, on a pensé que l'étude de la calciurie pouvait donner des renseignements utiles.

Nous avons vu, dans une autre partie de notre travail, qu'en réalité, l'élimination calcique urinaire ne correspondait nullement à la totalité des excréta ; très vite, on a constaté l'inutilité de cette recherche, son peu de valeur séméiologique.

L'étude des bilans calciques, pratiquée depuis quelque temps en France, renseigne sur la déperdition calcique. En aucune façon, cependant, le bilan calcique ne saurait préciser le sens de la modification osseuse. D'autre part, sa variation est quotidienne, et toute étude basée sur les bilans nécessiterait de les pratiquer sou-

vent. Or, il est vraiment impossible, pour le clinicien, de demander fréquemment une telle recherche, qui nécessite le dosage du calcium de chaque aliment, qui nécessite également le dosage de calcium dans les matières et l'urine, que l'on doit recueillir avec le plus grand soin.

On avait reconnu depuis plusieurs années, que la calcémie se maintenait à un taux relativement fixe, et L. Brüll, au Congrès de médecine de langue française, à Liège en 1930, affirmait une fois de plus très catégoriquement, que la calcémie en elle-même ne saurait, en aucun cas, traduire le trouble osseux lui-même. A la suite des travaux américains et de la découverte de la parathormone de Collip, des recherches expérimentales qui ont suivi cette découverte et que nous avons déjà longuement détaillées, est née la notion de l'hyperparathyroïdisme.

Dès lors, on a considéré comme un test sûr, le dosage du calcium dans le sang, pour affirmer l'origine parathyroïdienne d'une affection. La découverte d'adénomes parathyroïdiens, la constatation d'une forte hypercalcémie, ont tout d'abord fait considérer, nous l'avons vu, cette affection, comme une ostéose parathyroïdienne. Depuis, le nombre des dystrophies calciques osseuses, que l'on a voulu rattacher à l'hyperparathyroïdisme, s'en est allé en croissant. Ce fut la maladie de Paget, l'ostéomalacie, puis à la suite d'Oppel, en Russie, de son élève Ssamarin, on a rattaché un certain nombre de polyarthrites ankylosantes, de rhumatismes chroniques, etc., à un hyperfonctionnement parathyroïdien. En particulier, en France, Leriche et Jung préconisè-

rent la parathyroïdectomie, dans un certain nombre de cas où la calcémie était élevée.

Nous savons que la calcémie normale varie entre 0,095 et 0,110 pour 1000. De nombreux dosages pratiqués par nous, avec la méthode de Hirth, nous a confirmé le fait. Cependant, certains auteurs considèrent, peut-être avec raison dans certains cas, que ce chiffre de 0,110 est une limite supérieure et que toute calcémie qui dépasse ce chiffre peut être considérée comme une hypercalcémie et que l'on peut opérer les malades atteints de rhumatismes chroniques et pratiquer une parathyroïdectomie. Les résultats obtenus furent parfois heureux, mais on constata aussi des échecs (thèse de Franco à Paris, de Henry à Lyon).

Valeur de la calcémie.

Nous allons rapidement discuter la valeur clinique de cette recherche.

a) Nous n'insisterons pas sur la rigueur de l'une ou l'autre des méthodes de dosage employées ; leur critique en a été suffisamment faite au cours de ces dernières années (Guillaumin, Th. Vincent, Lyon, 1934).

Il s'agit d'un dosage difficile ; cependant, on peut obtenir des résultats bien suffisamment précis pour la clinique. Mais ce dosage, pour être bien fait, demande :

— un bon technicien. Il faut avoir déjà fait un grand nombre de dosages pour être sûr de ses résultats.

— une bonne technique. Que l'on utilise la méthode de Hirth, celle de Leulier, Velluz, Deschazeaux, ou celle

de Guillaumin, les résultats sont sensiblement identiques. Mais il faut se méfier de toute méthode sans précipitation des protéines.

b) La calcémie est-elle en elle-même, un élément sémiologique que puisse retenir le clinicien pour affirmer un diagnostic et décider une thérapeutique ?

Dans ces dernières années, la tendance générale était d'admettre que l'hypercalcémie était un signe sûr d'hyperparathyroïdisme. Lorsque chez un malade on constate la présence d'un syndrome typique de Recklinghausen avec ostéite fibro-kystique généralisée, nombreuses géodes ; lorsqu'on trouve à l'examen une tumeur de la région parathyroïdienne, il est certain que le taux élevé du calcium sérique, confirme la notion d'hyperparathyroïdisme. Lorsque les signes cliniques sont moins nets, que d'autre part, le chiffre de la calcémie atteint 0,140 % on peut croire à une lésion parathyroïdienne. Ces cas sont rares. Plusieurs dosages doivent être demandés.

Lorsque l'élévation est moins nette, il faut suspecter la valeur d'une simple recherche ; l'étude de la calcémie est insuffisante. On a voulu juger cette recherche d'après les résultats opératoires obtenus. Or, les résultats chimiques ne correspondent pas toujours aux résultats opératoires. Il faut s'entendre sur la nature de ces résultats. Que la parathyroïdectomie agisse sur les éléments nerveux telle que la douleur, ou sur tous les signes fonctionnels en général, cela est un fait indubitable. Il faut reconnaître cependant, d'après les nombreuses observations publiées par les chirurgiens et

que nous avons parcourues, que cette amélioration ne persiste pas toujours très longtemps. Bien souvent, il est vrai, la parathyroïde n'a pas été enlevée ; on relève, par exemple, dans un certain nombre d'observations d'Henry (Th. Lyon) : « thyro-parathyroïdectomie, mais pas de parathyroïde à l'examen histologique ». En parcourant les observations étrangères, on constate que, chaque fois qu'une parathyroïdectomie a été pratiquée et a amené une amélioration notable, l'opération avait été suivie d'une crise d'hypo-parathyroïdisme. Le meilleur test de l'action de la parathyroïdectomie envisagée d'un point de vue physiologique doit être la recalcification.

On allèguera justement que l'intervention prive néanmoins la parathyroïde de sa vascularisation normale, mais jusqu'à quel point cet acte est-il physiologiquement suffisant.

Ces faits montrent qu'il est très difficile de juger la valeur clinique de la calcémie d'après les résultats obtenus jusqu'ici. Cependant, il apparaît comme certain que dans les faibles hypercalcémies (0,110 ‰, 0,120 ‰), le seul dosage de calcium dans le sang est insuffisant pour poser une indication opératoire. Un autre test biochimique est nécessaire. Nous allons le proposer dans les lignes qui vont suivre.

c) L'hypercalcémie n'est pas, d'autre part, le témoin spécifique de l'hyperparathyroïdisme. Après castration, on constate une hypercalcémie légère (voir Chap. III). Il est vrai que l'on a prétendu que l'action ovarienne retentissait sur les parathyroïdes par l'intermédiaire de l'hypophyse.

d) Mais il existe encore d'autres causes qui peuvent troubler, sans atteinte parathyroïdienne, la calcémie. En clinique, il en est une dont on ne saurait négliger l'importance : l'augmentation du taux des protéines du sérum.

En résumé, la calcémie à elle seule n'apporte pas un élément séméiologique intéressant. Nous proposons d'autres méthodes d'investigation bio-chimique qui viennent d'une étude approfondie de la question. Elles sont établies non seulement d'un point de vue théorique, non seulement d'un point de vue expérimental, mais encore d'après les observations cliniques que nous rapporterons plus loin.

Ces recherches consistent, avant tout, en un dosage simultané du calcium et du phosphore inorganique, qui permettra d'établir les deux coefficients dont nous avons déjà parlé : le rapport Ca/P, le p (produit ionique).

LE RAPPORT Ca/P.

Intérêt. Si l'on considère l'expérimentation soit d'après les résultats des auteurs Américains, soit d'après nos propres résultats, on constate que le syndrome expérimental d'hyperparathyroïdisme s'accompagne d'une élévation de la calcémie, d'un abaissement de la phosphatémie tel que le rapport Ca/P est très élevé. Dans un grand nombre d'observations de maladies de Recklinghausen authentiques où l'on a pratiqué de telles recherches, les constatations sont identiques. Il semble donc que, dans les cas douteux, l'établissement d'un tel

rapport devienne un élément sémiologique précieux ; et l'on peut considérer comme atteint d'hyperparathyroïdisme tout malade dont le rapport Ca/P dépassera 5.

Causes d'erreur. Il existe quelques causes d'erreur ; et si la recherche du rapport Ca/P peut être utile, il faut néanmoins étudier ces causes d'erreur. Elles peuvent porter :

a) Sur le numérateur : Il s'agit la plupart du temps d'erreurs de dosage, qu'il faudra soigneusement éviter. Un trouble des protéines du sérum (en particulier augmentation notable) peut faire varier la calcémie totale indépendamment de tout autre facteur.

b) Sur le dénominateur : le dosage du phosphore inorganique du sérum est relativement simple ; généralement, on l'exprime non en PO_4H^3 , comme l'ont fait Gattelier, Durupt ; en P^2O^5 comme d'autres l'ont fait ; voire même en PO_4 , mais en phosphore (P). De toutes façons, il serait utile, lorsque des publications sont faites, d'indiquer comment on exprime le phosphore ; or, nous avons été obligé d'éliminer un grand nombre d'observations parce que les dosages rapportés ne pouvaient rien signifier pour nous, faute de porter cette indication.

La méthode de Briggs, Bell et Doisy, modifiée, que nous avons employée et que nous indiquons à notre chapitre des techniques, est une méthode excellente ; en France, elle a été employée par Marcel Labbé et Fabrykant ; de nombreux auteurs étrangers l'ont également utilisée. Elle a le tort d'être une méthode colo-

rimétrique et l'on peut lui faire tous les reproches que l'on adresse généralement à un tel procédé d'investigation. Au début de nos recherches, nous avons employé la méthode de Machebœuf (dosage titrimétrique) bien étudiée à Lyon par M. Morel dans la thèse d'Aalam ; nous avons comparé les deux méthodes. Les différences obtenues entre elles deux sont tellement minimes, que l'on doit estimer que le dosage du phosphore par la méthode de Briggs donne pratiquement les mêmes résultats. Par ailleurs, cette méthode est infiniment plus simple et plus pratique.

2°) Mais d'autres causes peuvent fausser le dénominateur. Chez un animal intoxiqué par la parathormone, nous avons vu que, dans la première période de l'intoxication, ce n'était pas une hypophosphatémie mais une hyperphosphatémie que l'on constatait ; au lieu d'être très élevé, le rapport Ca/P est abaissé.

3°) D'autres facteurs interviennent encore : l'état rénal (Marcel Labbé et Fabrykant), l'état du foie également : ce n'est pas l'insuffisance hépatique légère qui provoquera une modification, mais de grosses lésions comme les cirrhoses.

c) Le rapport Ca/P peut lui-même être élevé légèrement pour d'autres causes que l'hyperparathyroïdisme : la fonction ovarienne.

d) En quoi le rapport Ca/P est-il supérieur à la simple calcémie ? Il totalise deux variations dont l'une étant douteuse est corrigée par la présence de l'autre. Ce n'est pas un rapport théorique, mais un rapport empirique, un simple témoin de l'hyperparathyroïdisme.

En résumé, malgré ces causes d'erreur inhérentes à toute mensuration biochimique appliquée à la clinique, on doit considérer que l'élévation du rapport Ca/P est un bon signe d'hyperparathyroïdisme. Nous considérons que son élévation entre 5 et 10 est anormale. Entre 4 et 5, un doute subsiste. Ainsi, on pourra interpréter une légère hypercalcémie et envisager la thérapeutique à suivre. On n'oubliera cependant jamais que la clinique ne peut se contenter d'un seul élément sémiologique, le rapport Ca/P (comme le coefficient de Maillard par exemple, dans les affections hépatiques), doit être envisagé comme un symptôme au milieu d'un syndrome clinique déterminé.

Il y a lieu d'envisager un autre aspect du problème et d'autres indications que pourra utilement donner ce rapport. Monsieur Leriche, ayant fait pratiquer des dosages de calcium sérique, constate dans certaines affections de l'hypocalcémie (par exemple, rétraction de l'aponévrose palmaire, certaines sclérodermies) ; plusieurs cliniciens ont proposé alors l'injection d'extraits parathyroïdiens. Chez certains malades, on trouve, en effet, un rapport Ca/P très diminué. Marcel Labbé et Fabrykant notaient, il y a un an, au même moment où, de notre côté, nous faisons de semblables constatations, l'existence de rhumatismes chroniques avec hyperphosphatémie. Enfin, nous avons constaté à côté de taux normaux de la calcémie des taux inférieurs dans certains rhumatismes chroniques et polyarthrites ankylosantes. Il en résulte que le rapport Ca/P est nettement abaissé ; parfois même il est inférieur à 1. Dans ces cas l'injection d'extraits parathyroïdiens amènera peut-être

une amélioration. Delmas-Marsalet (Bordeaux) a publié des observations dans lesquelles diverses affections, en particulier un cas de maladie de Paget, étaient améliorées par cette thérapeutique.

Le rapport Ca/P semble donc avoir une valeur certaine au point de vue séméiologique d'après les données de l'expérimentation et certains cas cliniques. Malheureusement les cas cliniques que nous apportons sont encore trop peu nombreux.

LE P (PRODUIT IONIQUE).

Alors que la parathormone agit en modifiant le rapport Ca/P ; et ne change pas le p (PI), la vitamine D (sous une forme ou sous une autre : ergostérol, viostérol, stérogyl, AT. 10) ne change pas le rapport Ca/P et modifie le p (PI). Nous avons vu, en effet, que dans l'ergostérolisme le rapport Ca/P était le même mais le p(PI) par suite de l'élévation simultanée de la calcémie de la phosphatémie augmentait. A l'inverse, dans le rachitisme le p(PI) est abaissé. En clinique, on note un abaissement du p(PI), par conséquent toute administration d'ergostérol irradié parera aux troubles de la calcification qui en sont la conséquence. Un tel abaissement du p (produit ionique) se note non seulement dans le rachitisme mais encore dans certaines formes d'ostéomalacie (ostéomalacie de carence étudiée en Chine et en Russie). Nous avons vu que ce p (produit ionique) d'après Holt, La Mer et Chown était approximativement de 24 chez l'homme normal. Toute élévation de ce p(PI) au-dessus de 24,5 indiquera une décalcification que sera

capable d'enrayer et de guérir l'administration de vitamine D. Un excès de vitamine D provoque l'hypervitaminose que nous avons décrite.

Somme toute, soit par l'étude du rapport Ca/P qui traduit une viciation d'origine parathyroïdienne, soit par l'étude du p (produit ionique) qui traduit une carence, on peut différencier certaines dystrophies calciques osseuses. Dans certains cas, le traitement considéré comme traitement d'épreuve (injection de parathormone, administration d'ergostérol) confirme le diagnostic apporté par la biochimie.

Mais il est des cas plus complexes dans lesquels, non seulement un de ces rapports est modifié, mais les deux. Aussi, s'explique-t-on certaines observations dans lesquelles la parathyroïdectomie d'une part avait amené cette amélioration, l'ingestion de vitamine D d'autre part avait augmenté cette amélioration.

Il existe un certain nombre de dystrophies qui ne relèvent pas de ces thérapeutiques ; dans lesquelles ces deux rapports sont inchangés. C'est ce que l'on remarque dans un grand nombre de rhumatismes chroniques et de polyarthrites ankylosantes, dans presque tous les cas de maladies de Paget authentiques, en particulier dans celles de Snapper et dans les nôtres. Il faut alors porter le problème sur un autre point. Nous l'ignorons encore ; mais il semble que ce soit sur un autre facteur que le facteur ionique que porte le trouble de la calcification. Ce sont sans doute des modifications d'ordre local qui prédominent. Peut-être, l'étude de la phosphatase de Robison, de la phosphatasémie lorsque l'on aura un dosage au point, éclaircira cette question encore

très obscure. Peut-être aussi les troubles du rapport protéique consécutifs à des troubles nerveux ou vasculaires.

II. — OBSERVATIONS

Nous rapportons ici un certain nombre d'observations qui sont classées d'après le tableau précédent. Cependant toute classification est un cadre trop rigide pour la clinique ; aussi, sera-t-il nécessaire de discuter certains cas, d'envisager les cas mixtes.

Ces observations sont de deux ordres : les unes puisées dans la littérature, les autres personnelles.

Parmi les observations publiées par différents auteurs, nous n'en avons pu recueillir qu'un très petit nombre. Le dosage du calcium a été très souvent pratiqué ; le dosage du phosphore inorganique du sérum l'a été beaucoup moins. De ce fait, nous avons été obligé d'éliminer un grand nombre d'observations concernant l'ostéite fibro-kystique de Recklinghausen, la maladie de Paget, les polyarthrites ankylosantes. D'autre part, dans certaines observations où l'on s'est intéressé à la phosphorémie, on n'a calculé que le phosphore total ; dans d'autres on a calculé le phosphore inorganique, mais il a été rapporté soit en PO_4H^3 , soit en P_2O_5 , soit enfin en P. Nous avons pu dans certaines observations calculer en P le résultat trouvé ; par contre, nombreux sont les cas où les auteurs n'ont pas indiqué comment

ils donnaient leurs résultats ; ne sachant s'ils les exprimaient en P^2O^5 ou en PO^4H^3 , nous n'avons pu utiliser leurs observations.

Parmi nos observations personnelles, plusieurs ont été publiées dans la thèse d'Henry (Lyon, 1934), quelques-unes seront publiées dans la thèse de Payrau (Lyon, 1934, sous presse). Enfin, il en est d'autres qui ont pu être publiées ou qui seront présentées dans diverses sociétés médicales.

**1°) Observations dans lesquelles il y a une modification
du p (produit ionique).**

a) Rachitisme.

N'ayant pas d'observations personnelles de rachitisme, nous ne rapporterons pas les nombreuses observations publiées en Amérique. Dès 1923, Howland attirait l'attention sur la baisse du produit $Ca \times P$. Dans presque toutes les observations, il est inférieur à 40. Shipley, Kramer et Howland, etc., ont à nouveau insisté sur ce fait.

Dans le rachitisme infantile, la calcémie totale est tantôt normale, tantôt légèrement inférieure et, plus

(*) Nous remercions M. le Dr Henry qui a bien voulu nous prêter les observations, rédigées par lui-même, d'un certain nombre de malades pour lesquels nous avons fait des dosages.

rarement, une hypocalcémie prononcée (0,050 à 0,070 p. 1000) peut se produire. Il y a, en outre, hypophosphatémie, le p(Pi) est toujours plus élevé que normalement, parfois il dépasse 28 (Holt, La Mer, Chown).

b)-Ostéomalacie.

Il existe de nombreux cas d'ostéomalacie dans lesquels on trouve un p(Pi) largement supérieur à la normale.

I. — *Voici un certain nombre de cas d'ostéomalacie de Chine* (Lee Monroe Miles (M. D.) and Chih-Tung Feng, *Journ. of exper. Med.*, 1925, 41, 137-157).

Ostéomalacie de Chine.

N°	Ca ‰	P ‰	p(Pi)
1	0,052 ‰	0,025 ‰	25,39
2	0,060 ‰	0,019 ‰	25,29
3	0,074 ‰	0,018 ‰	25,08
4	0,056 ‰	0,023 ‰	25,30
5	0,058 ‰	0,030 ‰	24,98
6	0,070 ‰	0,038 ‰	24,62
7	0,058 ‰	0,034 ‰	24,86
8	0,070 ‰	0,024 ‰	24,97
9	0,05 ‰	0,020 ‰	25,33
10	0,054 ‰	0,032 ‰	25

II. — D... M... (Service Professeur Bérard, H-D, salle Lumière).

Agée de 50 ans. Envoyée par le Dr Creyssel, comme ostéomalacie. Ménopause depuis 1 ans. Présente, depuis quelques mois, des douleurs lombaires insidieuses et vagues. Ne peut ni marcher ni se tenir debout. Grosse asthénie.

A l'examen : tassement lombaire — douleurs à la pression sur les côtes.

A la radiographie : décalcification intense de tout le squelette lombo-sacré. Images tachetées en mie de pain des ailes iliaques. Tassement de la colonne dorso-lombaire. Quelques calcifications thoraciques. Ni géodes ni néoformations. Chute des dents (à l'âge de 20 ans).

Pas de tumeur parathyroïdienne. Pas de néoplasme.

Ca = 0,085 ‰ P = 0,028 ‰ Ca/P = 3,03 p(PI) = 24,53

En raison de l'hypocalcémie, aucun traitement chirurgical n'a été envisagé. Traitement par l'ergostérol irradié.

Revue 8 mois après, par le Dr Creysse : grosse amélioration fonctionnelle. Recalcification générale constatée à la radiographie.

2°) Observations dans lesquelles il y a une augmentation du rapport Ca/P.

I) Observ. Barr, Bulger, Dixon (*Journ. of Amer. Med. Assoc.*, 1929, 92, A, 951-952).

Ostéose parathyroïdienne.

Décalcification de tout le squelette à la radiographie, fractures spontanées, courbures osseuses.

Lésions fibro-kystiques avec tumeur giganto-cellulaire. Hypotonie musculaire, pollakiurie.

Ca = 0,160 ‰ P = 0,0145 ‰ Ca/P = 11 p(PI) = 24,3

Intervention : parathyroïdectomie. Tumeur parathyroïdienne formée d'un kyste entouré d'un tissu presque normal. Légère tétanie post-opératoire.

Examen chimique : 2 jours après l'intervention :

Ca = 0,129 ‰ P = 0,03 ‰ Ca/P = 4,3 p(PI) = 23,96

10 jours après :

Ca = 0,075 ‰ P = 0,012 ‰ Ca/P = 0,68 p(PI) = 23,53

Résultats de l'intervention : amélioration fonctionnelle relative. Gros accidents d'hypoparathyroïdisme. *Recalcification à la radiographie.*

II) Obs. Boid, Milgram, Stearns (*Journ. of Amer. Méd. Assoc.*, 1929, 93, 684-688).

Ostéose parathyroïdienne, avec décalcification de tout le squelette (radiographies). Incurvations osseuses. Kystes de tous les os. Bon tonus musculaire. Polyurie. Polydipsie.

A l'intervention : tumeur parathyroïdienne.

Après l'intervention : recalcification (radiographie), amélioration subjective très nette, accidents tétaniques légers.

Examen chimique : avant l'intervention :

Ca = 0,153 ‰ P = 0,022 ‰ Ca/P = 6,9 p(PI) = 23,34

Après l'intervention :

Ca = 0,176 ‰ P = 0,033 ‰ Ca/P = 5,3 p(PI) = 23,45

III) Obser. Pemberton et Geddie (*Ann. of Surg.*, 1930, 92, 202-211).

Ostéose parathyroïdienne.

Décalcification des os constatée à la radiographie. Pas de kystes.

Crises de vomissements sans cause apparente, pâleur, perte de poids, polydipsie, polyurie.

Examen chimique : avant l'intervention :

1^{er} : Ca=0,0163 ‰ P=0,024 ‰ Ca/P=6,6 p(PI)=23,56

2^e : Ca=0,176 ‰ P=0,028 ‰ Ca/P=6,2 p(PI)=23,58

A l'intervention : adénome parathyroïdien, non perçu à la palpation.

Après l'intervention: signes d'insuffisance parathyroïdienne.

Radiographies inchangées.

Le phosphore et le calcium sont redevenus normaux.

Echec de l'ergostérol sur la recalcification.

IV) Obs. Snapper (*Nederl. Tijdschr. Vor. Geneskunde*, 1929, 23, 4758-4773).

Ostéose parathyroïdienne.

Décalcification généralisée (radiographies, fractures spontanées, incurvations osseuses, kystes seulement à l'omoplate et à un métatarsien.

Examen chimique :

Ca = 0,236 ‰ P = 0,015 ‰ Ca/P = 15,7 p(PI) = 23,75

Intervention : tumeur parathyroïdienne : adénome.

Recalcification très marquée, un an après. Importante amélioration fonctionnelle.

V) Obser. Thèse de Lièvre (obs. 2).

Ostéose parathyroïdienne, avec décalcification du squelette, tumeur parathyroïdienne perceptible.

Ca = 0,105 ‰ P = 0,025 ‰ Ca/P = 4,2 p(PI) = 24,1

Après l'intervention : insuffisance parathyroïdienne grave, puis recalcification, amélioration marquée.

VI) Obser. Snapper (*All. Méd.*, mars 1931).

Léontiasis ossea.

Ca = 0,116 ‰ P = 0,0324 ‰ p(PI) = 24,21

VII) Obser. Moulonguet-Doleris, May et Lièvre (in *Cong. Chir.*, 1933, p. 303).

Ostéose parathyroïdienne, opérée et guérie depuis 2 ans.

Décalcification, remaniement architectural, géodes, tuméfaction osseuse en divers points de l'organisme, aplatissement du thorax et du bassin, tassement du rachis, fracture spontanée.

En outre, constipation opiniâtre, vomissements, anorexie, douleurs osseuses.

Ca = 0,105 ‰ P = 0,025 ‰ Ca/P = 4,2 p(PI) = 24,16

Intervention : ablation d'un adénome parathyroïdien, chute de la calcémie à 0,095 ‰.

2 ans après l'intervention : recalcification du squelette, mais persistance des déformations ; certaines petites tumeurs ont disparu ; la plus volumineuse reste sans changement.

VIII) Obser. Alessandri (in *Cong. Chir.*, 1933).

Maladie de Recklinghausen généralisée.

Ca = 0,160 ‰ P = 0,021 ‰ Ca/P = 7,6 p(PI) = 23,66

Après l'ablation d'un adénome parathyroïdien :

Ca = 0,110 ‰ P = 0,035 ‰ Ca/P = 3,1 p(PI) = 24,18

IX) Obser. Quick, Hunsberger (*Journ. of Amer. Med. Assoc.*, 1931, 96, 745-751).

Ostéose parathyroïdienne.

Décalcification généralisée (radiographie), fracture spontanée, courbure osseuse, kystes, parfois aspect de cellules géantes, à l'examen histologique.

Examen chimique :

Ca = 0,154 ‰ P = 0,021 ‰ Ca/P = 7,5 p(PI) = 24

A l'intervention : tumeur parathyroïdienne, résultats post-opératoires, recalcification, le malade a présenté, pendant quelques jours, des signes de tétanie.

X) Dyke (S. C.), Milnes Walker et Freeman (E.), (*The Lancet*, 1933, 5.740, 525).

Maladie de Recklinghausen : douleurs, déformation osseuse. Fracture spontanée.

A la radiographie : décalcification généralisée.

Ca = 0,177 ‰ P = 0,028 ‰ Ca/P = 6,3 p(PI) = 24

XI) Obser. Abel, Thompson, Hawksley (*The Lancet*, 1933, 5.740, 525).

Maladie de Recklinghausen, chez une femme de 58 ans. Tu-

meur du tibia gauche. A la radiographie : kystes et décalcification générale du squelette.

Ca = 0,140 ‰ P = 0,018 ‰ Ca/P = 7,7 p(PI) = 24,28

Ablation de deux tumeurs parathyroïdiennes. Guérison.

XII) Obser. personnelle.

J... M..., 21 ans : Ostéite fibreuse du tibia.

A la radiographie : aspect lacunaire de la portion moyenne du tibia. Pas de tumeur parathyroïdienne.

Ca = 0,110 ‰ P = 0,022 ‰ Ca/P = 5 p(PI) = 24,51

On n'a pas pratiqué d'intervention.

XIII) Obser. Mme S... (Dr Thiers), in Th. Henry.

Polyarthrite ankylosante, avec spondylose discrète, rétraction de l'aponévrose palmaire, présence d'un goitre kystique.

Radiographies : décalcification, quelques images pseudo-géodiques au niveau des deux radius.

Ca = 0,123 ‰ P = 0,022 ‰ Ca/P = 5,5 p(PI) = 24,3

Ablation du goitre à l'intervention, mais pas de parathyroïdes à l'examen histologique. Amélioration clinique tardive.

XIV) Obser. Mlle L... (Personnelle).

Décalcification avec présence dans tout le squelette costal et claviculaire de géodes multiples de taille variable.

Les radiographies des os longs sont normales : B. W. négat.

En outre, douleurs intercostales très vives, pression des côtes douloureuse.

Ca = 0,108 ‰ P = 0,022 ‰ Ca/P = 4,9 p(PI) = 24,45

Parathyroïdectomie. Décès.

On constate, d'après ces quatorze observations, que l'élévation du rapport Ca/P correspond à des lésions osseuses d'ostéite fibro-kystique constatées radiologiquement. Dans les 11 premières observations, les résul-

tats obtenus après l'intervention permettent d'affirmer l'origine parathyroïdienne de la dystrophie osseuse calcique. Nos trois dernières observations personnelles présentent une élévation du rapport Ca/P ; on constate, en outre, à la radiographie, une grosse décalcification des géodes. Le rapport Ca/P semble donc mettre d'une façon indéniable en évidence l'altération parathyroïdienne dans ces observations. Aussi, doit-on le considérer comme un élément sémiologique de premier ordre pour le diagnostic étiologique de certaines dystrophies calciques osseuses. On en tire également une indication thérapeutique : la parathyroïdectomie. L'expression : amélioration clinique ou pas d'amélioration, ne concerne que la douleur et la raideur articulaire. La recalcification seule nous occupe. Elle ne peut être jugée que dans les cas qui comprirent des radiographies nettes avant et après l'intervention.

**3°) Cas mixtes dans lesquels on relève à la fois
une altération du p (PI) et du rapport Ca/P.**

I) Obser. Wilder (*Endocrinologie*, 1929, 13, 231-244).

Décalcification généralisée à la radiographie, douleurs articulaires, asthénie.

Examen chimique :

Ca = 0,114 ‰ P = 0,014 ‰ Ca/P = 8 p(PI) = 24,77

Un traitement à l'ergostérol irradié amène une amélioration.

Intervention : parathyroïdectomie. Tumeur parathyroïdienne (néoplasme à l'examen histologique).

Après l'intervention : recalcification, grosse amélioration des mouvements articulaires. Pas d'accidents tétaniques.

II) Obser. Hunter (*Proc. Roy. Soc. Med.*, 1931, 24, 486-496).

Décalcification extrême à la radiographie. Fractures, courbures osseuses, images aréolaires ressemblant à des kystes.

Examen chimique :

Au début de la maladie : $\text{Ca} = 0,110 \text{ ‰}$ $\text{p} = 0,033 \text{ ‰}$
 $\text{Ca/P} = 3,33$.

Avant l'intervention :

$\text{Ca} = 0,126 \text{ ‰}$ $\text{P} = 0,013 \text{ ‰}$ $\text{Ca/P} = 9,6$ $\text{p(Pi)} = 24,66$

Intervention : ablation d'une tumeur parathyroïdienne composée de cellules d'aspect vésiculeux.

Après intervention : les travées sont comblées, mais la décalcification reste entière.

D'après ces deux observations, on constate qu'il existe des cas mixtes avec élévation du p(Pi) et du rapport Ca/P . La première observation met en évidence l'action très nette qu'ont eue successivement le traitement par la vitamine D et la parathyroïdectomie. Dans la seconde, la parathyroïdectomie n'a pas amené de recalcification ; seules les travées ont été comblées. Etant donné l'élévation du p(Pi) à 24,66, il est fort possible qu'un traitement riche en vitamines D aurait, comme dans le cas précédent, amené une amélioration très nette.

4°) Cas dans lesquels aucune modification n'a été signalée
ni dans le p (PI) ni dans le rapport Ca/P.

Ces observations sont très nombreuses. Nous les rangerons d'après leur classification clinique habituelle.

I) *Maladie de Paget.*

A) Snapper a rapporté (*Ann. Méd.*, mars 1931), les résultats chimiques suivants, dans plusieurs cas de cette affection.

	Ca ‰	P ‰	p(PI)	Ca/P
I	0,111	0,031	24,06	3,59
II	0,1097	0,0264	24,13	4,1
	0,0991	0,336	24,12	3
III	0,115	0,0385	23,89	3

B) Nous rapportons les cas suivants :

I. — R... M... 65 ans (Dr Devic).

Décalcification totale des os. Au crâne, géodes. Aux vertèbres, décalcification globale. Grosse tête, périmètre : 65 cm., pas de douleurs, pas de raideur, pas de signes endocriniens.
Ca = 0,116 ‰ P = 0,041 ‰ Ca/P = 2,8 p(PI) = 23,14

II. — M... (Dr Enselme).

Pseudo-ostéomalacie, maladie de Paget probable.
Ca = 0,088 ‰ P = 0,038 ‰ Ca/P = 2,55 p(PI) = 24,39

II) *Polyarthrite ankylosante, spondylose rhyzomélique
et rhumatisme chronique.*

I. — I... (Service Prof. Bérard).

Polyarthrite ankylosante généralisée, Décalcification des épiphyses, grosse tache calcifiée des extrémités digitales.

Ca = 0,095 ‰ P = 0,026 ‰ Ca/P = 3,6 p(PI) = 24,47
Parathyroïdectomie : aucun résultat.

II. — C... M..., 63 ans.

Polyarthrite ankylosante ; colonne soudée depuis 2 ans ,
début par les épaules. Lassitude. Purpura.

Ca = 0,108 ‰ P = 0,025 ‰ Ca/P = 4,3 p(PI) = 4,3

Intervention : parathyroïdectomie. Amélioration des signes
fonctionnels ; diminution de la raideur articulaire qui per-
siste depuis 1 mois.

Un mois après :

Ca = 0,100 ‰ P = 0,041 ‰ Ca/P = 2,44 p(PI) = 24

III. — Mme C..., 57 ans.

Polyarthrite ankylosante. Décalcification vertébrale à la
radiographie. Spondylose. Hypertrophie tibiale très doulou-
reuse. Pas de tumeur parathyroïdienne. Etat dentaire excel-
lent. Asthénie.

Ca = 0,100 ‰ P = 0,023 ‰ Ca/P = 4,2 p(PI) = 24,41

IV. — J... (Service Prof. Leriche).

Spondylose diffuse, surtout lombaire.

Décalcification généralisée. Disparition de l'interligne arti-
culaire. Pas de décalcification métastatique. Pas de tumeur
parathyroïdienne.

Ca = 0,088 ‰ P = 0,024 ‰ Ca/P = 3,6 p(PI) = 24,41

Dans ces quatre observations, on ne constate pas de
grosses modifications de nos deux rapports ; cependant,
nous avons pensé les grouper ensemble parce que le
p(PI), sans être très augmenté, est à la limite du patho-
logique. On note d'autre part, dans deux de ces obser-
vations (II et III) un rapport Ca/P légèrement supérieur
à 4.

V. — M.... B..., 56 ans.

Rhumatismes chroniques ; maladie de Raynaud. Scléro-
dermie surtout sclérodactylie. B. W. négatif.

Radiographie : au niveau des mains et des poignets, légère déformation osseuse avec décalcification.

Ca = 0,177 ‰ P = 0,039 ‰ Ca/P = 3 p(PI) = 23,88

Hémithyroparathyroïdectomie : amélioration portant sur la sclérodermie la maladie de Raynaud ; le rhumatisme chronique n'a pas été enrayé dans son évolution ; pas d'amélioration radiographique.

VI. — G... (Serv. Prof. Bérard, in Th. Henry).

Spondylose ; malade figée, tête solidaire du tronc ; ankylose vertébrale totale, cypho-scoliose ; douleurs violentes ; étiologie inconnue.

Ca = 0,100 ‰ P = 0,029 ‰ Ca/P = 3,34 p(PI) = 24,26

Hémi-parathyroïdectomie : amélioration fonctionnelle ; pas d'amélioration osseuse.

Ca = 0,078 ‰ P = 0,120 ‰ Ca/P = 0,65 p(PI) = 23,37

VII. — V... (Serv. Prof. Leriche).

Rhumatisme chronique déformant ; mal perforant plantaire ; signes radiologiques typiques du rhumatisme. Pas de géodes.

Ca = 0,096 ‰ P = 0,029 ‰ Ca/P = 3,31 p(PI) = 24,36

VIII. — L... A... (Dr Enselme).

Polyarthrite ankylosante datant de 8 ans.

Ca = 0,092 ‰ P = 0,042 ‰ Ca/P = 2,1 p(PI) = 24,10

IX. — S..., 50 ans (Dr Paupert-Ravaut).

Crise de R. A. A. anciennement — apparition de tophi. Décalcification importante des os ; pas d'adénome.

Ca = 0,114 ‰ P = 0,036 ‰ Ca/P = 3,1 p(PI) = 23,99

X. — Mme R... (Serv. Prof. Bérard, in Th. Henry).

Polyarthrite ankylosante avec myosite ossifiante. Pas d'étiologie connue.

Radiographie : hypertrophie épiphysaire généralisée avec

décalcification ; ostéophytes ; pas de géode. Calcifications superficielles.

Ca = 0,109 ‰ P = 0,0375 ‰ Ca/P = 2,9 p(PI) = 23,9

Hémiparathyroïdectomie. Pas de tissus parathyroïdiens à l'examen histologique.

Après l'opération :

Ca = 0,094 ‰ P = 0,037 ‰ Ca/P = 2,5. p(PI) = 24,19

XI. — G..., 55 ans (Serv. Prof. Bérard, in Th. Henry).

Rhumatisme déformant généralisé, prédominant aux mains. Rhumatisme vertébral avec ankylose et douleurs.

Radiographie : au niveau des mains et des poignets, déformation et décalcification. Images pseudo-géodiques dans l'épiphyse inférieure du radius droit. Au niveau de la colonne, becs et crochets très nets.

Ca = 0,104 ‰ P = 0,029 ‰ Ca/P = 3,59 p(PI) = 24,25

Intervention : ablation d'une parathyroïde et d'un adénome wolfien.

Ca = 0,070 ‰ P = 0,051 ‰ Ca/P = 0,37 p(PI) = 24,31

Pas d'amélioration radiographique de la décalcification. Enorme amélioration des signes fonctionnels.

XII. — L... (Serv. D^r Santy, in Th. Henry).

Rhumatisme chronique évolutif, sans étiologie connue. Atteinte de l'épaule droite, du poignet, des métacarpiens, des phalanges droites. Toutes les articulations des membres inférieurs sont déformées.

Radiographie : décalcification des extrémités osseuses ; déformation des métacarpiens. Rien au rachis.

Ca = 0,101 ‰ P = 0,031 ‰ Ca/P = 3,25

Parathyroïdectomie. Aucun résultat, l'évolution aiguë se poursuit.

XIII. — Mme Th... (Serv. Prof. Bérard).

Rhumatisme polyarticulaire, à forme synoviale, prédominant au niveau des genoux et de l'épaule droite. Douleurs. Ankylose.

$$\text{Ca} = 0,104 \text{ ‰} \quad \text{P} = 0,046 \text{ ‰} \quad \text{Ca/P} = 2,26$$

Hémithyroïdectomie ; pas de parathyroïde à enlever.

$$\text{Ca} = 0,086 \text{ ‰} \quad \text{P} = 0,046 \text{ ‰} \quad \text{Ca/P} = 1,8$$

Pas d'amélioration radiologique. Amélioration fonctionnelle.

XIV. — M... (D^r Ensélme).

Polyarthrite ankylosante, sclérodermie.

$$\text{Ca} = 0,096 \text{ ‰} \quad \text{P} = 0,041 \text{ ‰} \quad \text{Ca/P} = 2,3 \quad \text{p(Pi)} = 24,27$$

Dans toutes ces observations, on ne remarque pas d'altération du p(Pi), ni du rapport Ca/P. La parathyroïdectomie a souvent amené une amélioration fonctionnelle plus ou moins transitoire, mais jamais de recalcification constatable à la radiographie. On remarquera que, dans certaines de ces observations, on relevait une hypercalcémie indiscutable (V, IX). Mais le rapport Ca/P et le p(Pi) étaient normaux.

On relève des faits analogues dans les observations suivantes rapportées au Congrès de Chirurgie de 1933.

XV. — (Weissenbach, Gatellier et Durupt).

Rhumatisme chronique. Sclérodermie et concrétions calcaires. Ankylose de deux poignets.

$$\text{Ca} = 0,125 \text{ ‰} \quad \text{P} = 0,041 \text{ ‰} \quad \text{Ca/P} = 2,8$$

XVI. — Alessandri (Rome).

Ostéo-arthrite vertébrale diffuse avec scoliose grave.

$$\text{Ca} = 0,137 \text{ ‰} \quad \text{P} = 0,042 \text{ ‰} \quad \text{Ca/P} = 2,26$$

Parathyroïdectomie.

Ca = 0,095 ‰ P = 0,042 ‰ Ca/P = 2,26

Les résultats opératoires ne sont pas rapportés.

Nous relatons maintenant 5 observations personnelles de polyarthrite ankylosante ou de rhumatisme chronique, dans lesquelles on relève un abaissement notable du rapport Ca/P, par suite d'une élévation du taux du phosphore. Rappelons que le rhumatisme chronique avec hyperphosphatémie a été publié l'année dernière par Marcel Labbé au moment où, de notre côté, nous faisons, dans deux des observations ci-dessous publiées, les mêmes constatations.

XVII. — Mme B... (Service Prof. Bérard).

Polyarthrite ankylosante généralisée, douloureuse, apyrétique. Parathyroïdectomie. Les parathyroïdes sont normales à l'examen histologique ; 6 mois après, on constate une grosse amélioration. Avant l'opération, on avait pratiqué les dosages suivants :

Ca = 0,108 ‰ P = 0,089 ‰ Ca/P = 1,2 p(PI) = 23,2

XVIII. — Mme R... (Serv. Dr Santy, in Th. Henry).

Polyarthrite ankylosante, douloureuse, datant de 3 ans.

Radiographie. Déformation classique des épiphyses ; décalcification généralisée.

Ca = 0,106 ‰ P = 0,115 ‰ Ca/P = 0,91 p(PI) = 23,07

Ablation d'une parathyroïde supérieure : pas d'amélioration osseuse, mais amélioration fonctionnelle.

XIX. — Tch..., 48 ans (Serv. Prof. Tixier).

Polyarthrite ankylosante généralisée atteignant au maximum les membres inférieurs. Hypertrophie épiphysaire con-

sidérable. Pas d'étiologie nette. Pas de tumeur parathyroïdienne.

Ca = 0,072 ‰ P = 0,086 ‰ Ca/P = 0,83 p(PI) = 24,03

XX. — M... S...

Rhumatisme chronique, polyarthrite ankylosante. Pas d'antécédents rhumatismaux ou infectieux.

Ca = 0,087 ‰ P = 0,046 ‰ Ca/P = 1,88

XXI. — L... (Dr Paupert-Ravaut).

Rhumatisme chronique déformant.

Ca = 0,86 ‰ P = 0,46 ‰ Ca/P = 1,8

III) *Sclérodémie et syndrome de Thieberge-Weissenbach.*

Obs. I. — Th. Mme Basch. (*)

Sclérodémie, type Thieberge. Début par syndrome de Raynaud. Chute des dents. Décalcification radiographique des phalanges.

Dosages : Octobre 1929.

Ca = 0,130 ‰ P = 0,042 ‰ Ca/P = 3 p(PI) = 23,36

Juillet 1930.

Ca = 0,110 ‰ P = 0,034 ‰ Ca/P = 3,2 p(PI) = 23,6

Obs. II. — Th. Mme Basch (obs. 25).

Sclérodémie, type Thieberge généralisé, lentement progressive, pas de décalcification.

Novembre 1929.

Ca = 0,125 ‰ P = 0,044 ‰ Ca/P = 2,8 p(PI) = 23,57

Mai 1930.

Ca = 0,095 ‰ P = 0,034 ‰ Ca/P = 2,7 p(PI) = 23,8

(*) Basch (Mme M.). Le syndrome de Thieberge-Wiessembach. Thèse Paris, 1931.

Obs. III. — Th. Mme Basch (obs. 26).

Sclérodermie, type Thieberge, généralisée. Début par syndrome de Raynaud évoluant depuis l'âge de 18 ans. Accident à la ménopause. Pas de décalcification. Concrétions calcaires.
 $\text{Ca} = 0,112 \text{ ‰}$ $\text{P} = 0,053 \text{ ‰}$ $\text{Ca/P} = 2,1$ $\text{p(PI)} = 23,82$

Obs. IV. — Th. Mme Basch.

Sclérodactylie, sclérodermie. Syndrôme de Raynaud des 4 extrémités. Concrétions digitales et prérotuliennes de phosphates et carbonates de chaux.
 $\text{Ca} = 0,119 \text{ ‰}$ $\text{P} = 0,062 \text{ ‰}$ $\text{Ca/P} = 1,9$ $\text{p(PI)} = 23,41$

Obs. V. — Weissenbach, Gatellier et Durupt (*Cong. de Chir.*, 1933).

Sclérodermie étendue aux visage, nez, oreille, menton, membres inférieurs, membres supérieurs; aucune amélioration par l'extrait thyroïdien, l'acide phosphorique, l'acétylcoline et l'iodo bismuthate de quinine.

$\text{Ca} = 0,121 \text{ ‰}$ $\text{P} = 39,9 \text{ ‰}$ $\text{Ca/P} = 3,03$ $\text{p(PI)} = 23,87$

Parathyroïdectomie; amélioration — immédiatement après l'injection, abaissement de la calcémie à 0 gr. 092. — trois jours après l'opération — 1 mois après $\text{Ca} = 0 \text{ gr. } 116$.

Obs. VI. — Alessandri.

Sclérodermie. Arthropathie sclérodermique.

$\text{Ca} = 0,110 \text{ ‰}$ $\text{P} = 0,021 \text{ ‰}$ $\text{Ca/P} = 5,2$

Parathyroïdectomie :

$\text{Ca} = 0,090 \text{ ‰}$ $\text{P} = 0,054 \text{ ‰}$ $\text{Ca/P} = 1,6$

Obs. II. — B..., 56 ans (Service Prof. Bérard).

Sclérodermie par troubles vasomoteurs. Décalcifications légères des os. Quelques métastases profondes radiographiques. L'hémi-parathyroïdectomie diminue les douleurs, assouplit la peau, rend partiellement la motilité.

$\text{Ca} = 0,117 \text{ ‰}$ $\text{P} = 0,031 \text{ ‰}$ $\text{Ca/P} = 3,7$ $\text{p(PI)} = 23,6$

Obs. VIII. — B..., 23 ans.

Sclérodermie des doigts et syndrome de Raynaud.

Pas de calcifications anormales. Pas de tumeur parathyroïdienne.

Ca = 0,098 ‰ P = 0,034 ‰ Ca/P = 2,8 p(PI) = 24,15

Obs. IX. — Mme P..., 42 ans (Serv. Prof. Leriche, in Th. Payrau.

Sclérodermie partielle des membres et de l'abdomen avec troubles digestifs, amaigrissement et oscillations paradoxales après bain chaud.

Ca = 0,080 ‰ P = 0,036 ‰ Ca/P = 2,2 p(PI) = 24,14

Très améliorée par une stlectomie.

Obs. X. — Mme V... (Serv. Prof. Leriche, in Th. Payrau).

Sclérodermie améliorée par la sympathectomie.

Ca = 0,088 ‰ P = 0,042 ‰ Ca/P = 2,1 p(PI) = 23,92

IV) *Syndrome de Chauffard-Still et rhumatisme goutteux.*

Obs. I. — Dr Paupert-Ravaut).

Syndrôme de Chauffard-Still. Articulation œdématiée, douloureuse. Amaigrissement.

Ca = 0,080 ‰ P = 0,405 ‰ Ca/P = 1,6 p(PI) = 23,9

Obs. II. — S... E... (Dr Paupert-Ravaut).

Crise de rhumatisme articulaire aiguë, nette, puis décalcification osseuse. Tophis uratiques.

Ca = 0,114 ‰ P = 0,036 ‰ Ca/P = 3,1 p(PI) = 23,99

V) *Syndrome de Raynaud et artérites.*

Obs. I. — B... (Serv. Prof. Leriche).

Artérite des membres inférieurs, type Léo Buerger.

Ca = 0,096 ‰ P = 0,046 ‰ Ca/P = 2 p(PI) = 23,92

Obs. II. — G... (Serv. Prof. Leriche).

Artérite oblitérante. Claudication intermittente.

Ca = 0,112 ‰ P = 0,031 ‰ Ca/P = 3,6 p(PI) = 24,02

Obs. III. — B..., 23 ans (Serv. Prof. Leriche).

Syndrôme de Raynaud des quatre extrémités surtout marqué aux mains. Troubles trophiques, peau cartonnée infiltrée. Pas de déformations osseuses. Pas d'anomalies à la radiographie. Pas de concrétions calcaires.

Ca = 0,0984 ‰ P = 0,034 ‰ Ca/P = 2,7 p(PI) = 24,13

VI) *Maladie de Lobstein.*

On admet généralement que, dans cette affection, le calcium et le phosphore présentent des taux normaux. Nous rapportons l'observation suivante :

Z... C..., 41 ans.

Maladie de Lobstein, héréditaire ; sclérotiques bleues. Nombreuses fractures spontanées.

Ca = 0,096 ‰ P = 0,0304 ‰ Ca/P = 3,2 p(PI) = 24,3
Protéines = 88 ‰.

Deuxième examen, un mois après :

Ca = 0,084 ‰ P = 0,032 ‰ Ca/P = 2,6 p(PI) = 24,43

VII) *Observations diverses.*

1. — L... M..., 6 ans (Serv. Prof. Nové-Josserand).

Crise de rhumatisme articulaire aiguë à cinq ans. Courbure des tibias à type rachitique. B. W. positif. A la radiographie : os mal calcifié (tibia, péroné). Tumeur kystique du péroné.

$$\text{Ca} = 0,100 \text{ ‰} \quad \text{P} = 0,064 \text{ ‰} \quad \text{Ca/P} = 1,54$$

2. — C..., 9 ans et demi (Serv. Prof. Nové-Josserand).

Platispondylite généralisée. B. W. négatif. M. B. + 27 %.

$$\text{Ca} = 0,100 \text{ ‰} \quad \text{P} = 0,036 \text{ ‰} \quad \text{Ca/P} = 2,7$$

Voici deux observations d'un type un peu particulier.

3. — D... E... (Serv. Prof. Bérard).

Fracture de la diaphyse des trois métacarpiens de la main droite. Ostéoporose à ce niveau.

Avant l'opération :

$$\text{Ca} = 0,080 \text{ ‰} \quad \text{P} = 0,030 \text{ ‰} \quad \text{Ca/P} = 2,66$$

Sympathectomie péri-humérale : amélioration.

Quelques jours après l'opération :

$$\text{Ca} = 0,066 \text{ ‰} \quad \text{P} = 0,150 \text{ ‰} \quad \text{Ca/P} = 0,46$$

4. — B... J... (Serv. Prof. Bérard).

Fracture ouverte des deux os de la jambe. Ostéoporose des deux malléoles et de l'astragale.

$$\text{Ca} = 0,109 \text{ ‰} \quad \text{P} = 0,035 \text{ ‰} \quad \text{Ca/P} = 3,1$$

Sympathectomie péri-fémorale.

$$\text{Ca} = 0,104 \text{ ‰} \quad \text{P} = 0,34 \text{ ‰} \quad \text{Ca/P} = 2,9$$

CHAPITRE VI

Techniques

Nous ne détaillerons pas les différentes techniques que nous avons employées. Les unes sont très classiques. Les autres, propres au laboratoire où nous avons travaillé, ont été publiées dans les travaux précédents ; ces techniques étaient toutes montées au laboratoire de M. le Professeur Florence ; nous n'avons eu qu'à les utiliser en suivant minutieusement le protocole précédemment décrit

1° Les spectres d'absorption en ultra-violet ont été obtenus suivant le protocole indiqué par MM. Florence (G.), Enselme (J.) et Pozzi (M.) (*Bull. Soc. Chim. biol.*, 1932, 14, 1932-1935).

2° Les $p(H)$ ont été obtenus avec l'appareil de Vlès ; le protocole des courbes de neutralisation et de pouvoir

tampon est le même que celui indiqué dans la thèse de Ferrand (Se reporter à cette thèse : Th. Pharmacie, Lyon, 1933).

3° Les dosages du calcium ont été pratiqués suivant la technique de Hirth.

4° Les dosages de phosphore ont été faits suivant la technique de Machebeuf (les premiers dosages) telle qu'elle est indiquée par M. Morrel dans la thèse d'Aalam (Th. Pharm., Lyon, 1928). Nous avons obtenu par la méthode colorimétrique de Briggs des résultats tellement proches de ceux obtenus avec la méthode de Machebeuf, en pratiquant une série de dosages comparatifs, que nous avons par la suite uniquement employé cette méthode ; et cela, en raison de sa plus grande simplicité. D'autre part, actuellement c'est la méthode la plus employée.

CONCLUSIONS

Ce travail comprend :

1° L'étude de la calcification.

2° L'étude de la calcémie.

3° L'étude des régulateurs de la calcification et de la calcémie.

4° Des considérations sur les rapports entre la calcification et la calcémie ; particulièrement sur la traduction au niveau du sang des phénomènes qui se produisent au niveau de l'os.

5° Dans le dernier chapitre, nous essayerons d'appliquer à la clinique : à l'interprétation des dystrophies osseuses calciques, les données précédemment étudiées.

I. — ETUDE DE LA CALCIFICATION.

A) Nous envisageons d'abord la composition chimique de l'os. L'os comprend d'une part un substratum organique, d'autre part il est imprégné de sels minéraux.

a) La matière organique est l'osséine à partir de laquelle on peut obtenir, par solubilisation dans l'acide

formique anhydre, une substance dite : substance collagène.

Ce collagène a été étudié dans ce travail. Il s'agit d'une substance voisine de la gélatine. Nous apportons les courbes de neutralisation, de pouvoir tampon de cette substance et aussi l'étude son spectre d'absorption en ultra-violet.

b) L'étude de la teneur en sels minéraux de l'os varie avec les différents auteurs. Cela tient aux méthodes diverses utilisées dans les analyses. Nous donnons notre méthode et nous passons en revue les différentes méthodes employées.

On admet en général que les substances minérales de l'os forment un complexe voisin de l'apatite de Werner.

Mais la composition chimique de l'os varie avec le vieillissement par suite de transformations dans la nature des sels calciques.

B) Nous étudions ensuite les facteurs et le mécanisme de la calcification. Trois facteurs président à la calcification :

a) Le facteur ionique. La calcification est un phénomène de précipitation in vivo. Chacun des ions qui se précipite joue un rôle dans ce phénomène. Ces ions sont : l'ion PO_4^{4-} et l'ion Ca^{++} . Ces ions dans le milieu interstitiel sont en état d'équilibre ionique, l'augmentation de l'un entraîne la précipitation de l'autre. Il est possible d'établir les conditions de précipitation. La concentration des ions est mesurée par le produit ionique qu'il est facile de calculer lorsque l'on connaît la

teneur du milieu en ions PO_4^{4-} et en ions Ca^{++} d'une part, le pH d'autre part. En réalité, on exprime le phénomène non par le produit ionique mais par l'inverse de son logarithme : le p (produit ionique) = p(PI). Tout facteur qui augmente le produit ionique abaisse son inverse le p(PI) et incline vers la calcification.

b) Le facteur protéidique. Plusieurs histologistes ont supposé qu'il devait intervenir dans le phénomène de la calcification. Il est possible de fixer du Ca sur l'os-séine. S'il se forme une combinaison protéino-calcique, il s'agit d'un phénomène insuffisant pour expliquer la calcification. En réalité, l'os-séine adsorbe sans doute le calcium. Toute altération du support, c'est-à-dire de l'os-séine, diminue la condensation des ions en surface et ralentit la calcification.

Nous avons essayé de mettre en évidence les modifications du collagène :

1) du cal de fracture ; 2) d'os altérés expérimentalement (parathormone, ergostérol). On ne peut pas affirmer de modifications de l'élément collagène ainsi étudié par le dosage des groupements NH_2 , par les courbes de neutralisation, de pouvoir tampon et par l'étude du spectre en ultra-violet. Mais cela ne signifie pas l'intégrité de la matrice organique.

c) Le facteur diastasique. Une diastase étudiée par Robison existe dans l'os en voie de calcification ; elle hydrolyse l'éther mono-hexose phosphorique et libère les ions PO_4^{4-} , ce qui provoque un déséquilibre ionique qui est à la base du phénomène de la précipitation calcique.

II. — ETUDE DE LA CALCÉMIE.

La calcémie (calcium du sérum) est de 90 à 110 mgr. par litre. Le calcium dans le sérum se répartit en trois portions :

- une portion colloïdale, sans doute liée aux protéines.
- un complexe adsorbable, diffusible, non ionisé.
- une fraction ionisée.

Les facteurs physico-chimiques qui règlent la calcémie sont : la teneur du sang en protéines — le taux des ions PO_4 — l'équilibre acido-basique.

Le taux de la calcémie est relativement fixe chez l'homme normal, par suite des ingestions quotidiennes et de l'excrétion.

Connaissant les ingesta et les excreta, il est possible d'établir des bilans calciques. Le taux de la calcémie ne varie pas, que le bilan soit négatif ou positif.

III. — ETUDE DES RÉGULATEURS DE LA CALCIFICATION ET DE LA CALCÉMIE.

A) *Les hormones.*

Il en est une dont l'importance est capitale : c'est la parathormone. Nous avons étudié expérimentalement son action. Elle augmente la calcémie — diminue la phosphatémie — augmente d'une façon considérable le rapport Ca/P, mais le p(PI) reste inchangé. En conséquence, elle n'agit pas sur la calcification en modifiant l'équilibre ionique, mais en lésant la matière organique

ainsi que le montre l'étude chimique des os de lapin, ayant subi des injections de parathormone, et chez lesquels il nous a été possible de reproduire expérimentalement une ostéite fibro-kystique.

Parmi les autres hormones, il ressort, d'après nos expériences sur les lapines ovariectomisées, que la calcémie est augmentée d'une façon durable alors que la phosphatémie est diminuée.

Le rôle des autres glandes à sécrétion interne est moins net. La thymectomie n'amène que des modifications insignifiantes; il semble que cette glande, de même que le corps thyroïde, agissent plus sur la morphogénèse que sur la calcification elle-même.

B) *Les vitamines.*

La vitamine D augmente la calcémie et la phosphatémie, mais surtout abaisse le p(PI), ce qui provoque une hyperminéralisation générale de l'os. Cependant, son action à hautes doses peut être toxique. On commet une erreur en opposant ou en juxtaposant l'influence de la vitamine D et celle de la parathormone. L'une agit sur la calcémie en augmentant l'adsorption calcique, l'autre en retirant le calcium tissulaire, principalement des os.

Leur mécanisme d'action sur la calcification est différent, puisque la vitamine D modifie l'équilibre ionique, alors que la parathormone ne le change pratiquement pas.

IV. — CALCÉMIE ET CALCIFICATION.

1) La calcémie considérée seule ne peut nous renseigner sur la calcification. Avec la phosphatémie, elle permet de calculer le p (produit ionique) du sérum et de se rendre compte de ses variations. Dans certains cas (ergostérolisme, rachitisme, certaines ostéomalacies), on voit une modification du p (produit ionique). Elle se répercute sans doute sur la lymphe périossseuse et cette modification générale amène des troubles de la calcification. A part les cas où elle détermine une variation du p(PI), la calcémie n'a pas d'influence directe sur la calcification et n'en est que l'image lointaine.

2) Différents auteurs ont cherché dans le dosage de la phosphatasémie une traduction des phénomènes de calcification osseuse. Il s'agit là d'une méthode d'investigation qui n'est pas encore au point ; enfin, on ne sait pas si l'augmentation du taux de la phosphatémie est la conséquence ou la raison des modifications osseuses. L'augmentation de la phosphatasémie se produit dans toutes les modifications de la calcification. Aussi, son intérêt ne peut-il être que restreint.

V. — TRADUCTION SANGUINE DES TROUBLES DE LA CALCIFICATION DANS LES DYSTROPHIES OSSEUSES.

Des dosages simultanés de calcium et de phosphore inorganique dans le sérum peuvent permettre aux bio-

chimistes d'indiquer aux cliniciens le trouble de la calcification qui prédomine dans une dystrophie osseuse déterminée. Ils leur permettent aussi d'envisager la thérapeutique à suivre par l'emploi de la vitamine D, de la parathormone ou par la pratique de la parathyroïdectomie.

On peut répartir les dystrophies calciques en quatre groupes :

a) Celles chez lesquelles il y a une élévation du p(PI) sanguin. La vitamine D qui diminue ce rapport aura un effet maximum : rachitisme, certaines ostéo-malacies (Chine).

b) Celles chez lesquelles il y a des modifications très nettes du rapport Ca/P nées des variations en sens contraire du taux de la calcémie et de celui de la phosphatémie. L'exagération du rapport Ca/P est le témoin de l'hyperparathyroïdisme ; le p(PI) reste normal. La parathormone agit directement sur l'os sans utiliser l'intermédiaire des ions du sérum : ostéoses parathyroïdiennes.

c) Celles chez lesquelles les troubles portent à la fois sur le p(PI) et sur le rapport Ca/P. Les deux thérapeutiques agissent heureusement (certaines polyarthrites).

d) Celles qui ne présentent aucune de ces anomalies (on y rencontre de nombreux cas de maladie de Paget, des sclérodermies, des maladies de Raynaud). Elles sor-

tent du cadre de cette étude. Actuellement, il ne semble pas que l'étude chimique de la phosphatémie et de la calcémie puisse donner des renseignements à leur sujet. La parathyroïdectomie semble agir plutôt sur l'élément nerveux que sur l'élément osseux.

Vu :

Le Doyen,
J. LÉPINE

Le Président de la Thèse,
LÉON BÉRARD

Vu et permis d'imprimer :

LYON, le 29 Novembre 1934

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,

Pour le Recteur, le Doyen délégué :

M. GRIGNARD.

BIBLIOGRAPHIE

Nous ne donnerons ici qu'un nombre de références très restreint vis-à-vis du nombre considérable de publications que nous avons lues. Pour ne pas surcharger cette bibliographie, nous avons pensé qu'il était inutile de reproduire les références données dans le compte-rendu du Congrès français de médecine de 1930 (Bibliographie des articles de MM. Brüll, Mouriquand et Leulier, Weill et Guillaumin). On trouvera également un grand nombre de références dans l'article de Guillaumin (Bull. Soc. Chim. Biol., 1932), enfin dans le traité de Peters et Van Slyke. D'autre part, les articles américains les plus récents que nous citons comprennent une bibliographie très complète.

AALAM (F.). — Contribution à l'étude de la répartition du phosphore dans le sang humain. Variation du phosphore total et du rapport entre les formes organiques et inorganiques du phosphore dans le sang des sujets normaux et tuberculeux. *Th. Pharm.*, Lyon, 1928, 92 p. Bosc et Riou.

ALBRIGHT (F.), BAUER (W.), COCKRILL (J. R.) and ELLSWORTH (R.). — Studies on the physiology of the parathyroid glands: II. The relation of the serum calcium to the serum phosphorus at different levels of parathyroid activity. *The Journ. of Clin. Inv.*, 1931, 9, 4.

- ARNOLD (R. M.) and MENDEL (L. B.). — Interrelationships between the chemical composition of the blood and the lymph of the dog. *Journ. of biol. Chem.*, 1927, 72, 189-211.
- AUSTONI (B.) et COGGI (G.). — La phosphatase du plasma dans différentes affections. *Presse Méd.*, 1934, 82, 1594-1596.
- ARTHUS (M.) et JEDŹEPOWSKA (Mme). — Parathyroïdectomie et Vitamine D. Influence sur le calcium sanguin. *C. R. Soc. biol.*, 1931, 107, 105-106.
- Parathyroïdectomie et Vitamine D, *C. R. Soc. biol.*, 1931, 107, 23-24.
- ASCHER (D. W.) and JONES (J. H.). — Effect of irradiated ergosterol after the removal of the parathyroid glands from rats. *Journ. of biol. Chem.*, 1933, 100, 333-343.
- BACQ (Z. M.) and DWORKIN (S.). — The action of parathyroid extract in sympathectomized animals. *The Amer. Journ. of phys.*, 1930, 45, 614-619.
- BARR (D. P.), BULGER (H. A.) and DIXON (H. H.). — Hyperparathyroidism. *Journ. Am. Med. Assoc.*, 1929, 92, 951-952.
- BAUDOIN (A.), LEWIN (J.) et AZERAD. — Sur la régulation de la calcémie chez le chien. Influence de la rate. *C. R. Soc. biol.*, 1934, 14, 1633-1636.
- BAUER (W.). — Hyperparathyroidism. A distinct disease entity. *The Journ. of Bone and Joint. surg.*, 1933, 15, 135-151.
- BAUER (W.), ALBRIGHT (F.) and AUB (J. C.). — Studies of calcium and phosphorus metabolism. A study of the bone trabecular as a readily available reserve supply of calcium. *The Journ. of experim. Medicin.*, 1929, 49, 145-161.
- BENJAMIN (H. R.). — The nature and significance of the filtrable adsorbable calcium-phosphorus complex. *Journ. of biol. Chem.*, 1933, 100, 54-57.
- The forms the calcium and inorganic phosphorus in animal sera : II. The nature and significance of the filtrable adsorbable calcium-phosphorus complex. *Journ. of biol. Chem.*, 1933, 100, 57-59.

- BENJAMIN (H. R.) and HESS (A. F.). — The forms of the calcium and inorganic phosphorus in human and animal sera : normal, rachitic, hypercalcemic and other conditions. *Journ. of biol. Chem.*, 1933, 100, 27-54.
- The forms of the calcium and inorganic phosphorus in human and animal sera. *Journ. of biol. Chem.*, 1933, 103, 629-643.
- BEZNAK (Von A.). — Der Zustand des Ca von normalen und parathyreopriven Hunden. *Biochem. Zeit.*, 1930, 223, 295-299.
- Die adsorbierbarkeit des Ca der parathyreopriven und normalen Sera. *Biochem. Zeit.*, 1930, 225, 299-305.
- Die Menge des physiologischdiffusiblen Ca im Serum normalen und parathyreopriven Hunden. *Biochem. Zeit.*, 1930, 225, 305-312.
- BIGWOOD (E. J.). — Le métabolisme du calcium. *Le Scalpel*, 1932, 17, 1-29.
- BLANCHETIÈRE (A.). — Les principes immédiats des êtres vivants. IV. Les constituants minéraux. In *Traité de Physiologie* (ROGER et BINET). 1932, 4, 779-774. Masson et Cie.
- BODANSKY (O.). — Determination of serum phosphatase factors influencing accuracy. *Journ. of biol. Chem.*, 1933, 101, 93-104.
- BODANSKY (O.), BAKWIN (R. M.) and BAKWIN (H.). — The distribution of phosphatase in the tissues of Teleosts and Elasmobranchs. *Journ. of biol. Chem.*, 1931-32, 94, 550-560.
- BODANSKY (A.) and JAFFÉ (H. L.). — Parathormone overdose and serum calcium and phosphorus, in experimental chronic hyperparathyroidism leading to osteitis. *Journ. of experim. Med.*, 1931, 53, 591-604.
- BOGERT (L. J.) and HASTINGS (A. B.). — The calcium salts of Bone. *Journ. of biol. Chem.*, 1931-32, 94, 473-481.
- BRÉCHOT (A.) et PERGOLA (J.). — Ostéite fibro-kystique expérimentale par injection de parathormone chez le lapin. *Bull. et Mém. Soc. Nat. Chir.*, 1933, 59, 346-349.

- BROWN (H. B.) and SHOHL (A. T.). — Richets in rats : the alterations of calcium and phosphorus metabolism of normal and richetic rats produced by irradiated ergosterol. *Journ. of biol. Chem.*, 1930, 86, 245-261.
- BRÜLL (L.). — Le métabolisme du calcium. *Cong. Franç. Méd.* XXXI^e session, Liège, 1930. II^e rapport, 1-34.
- Signification du seuil d'excrétion des phosphates minéraux. *C. R. Soc. biol.*, 1928, 1, 325-327.
- CHEYMOL (J.) et GUINQUANQ (A.). — Sur la baisse du calcium dans le sang du chien, après l'ablation soit des parathyroïdes, soit de l'appareil thyroparathyroïdien. *C. R. Soc. biol.*, 1933, 110, 4-7.
- Sur le calcium des os chez les chiens hyperthyroïdisés ou hyperparathyroïdisés, ou soumis à ces deux traitements combinés. *C. R. Soc. biol.*, 1932, 109, 1396-1398.
- CHIRAY (M.), MARCOTTE (A.) et LE CANUET (R. F.). — Variations du calcium sanguin et du calcium biliaire chez l'homme sous l'influence de gluconate de calcium et d'extrait parathyroïdien. Calcémie et calcibibie provoquée. *Presse Méd.*, 1933, 104, 2109-2111.
- COLLIP (J. B.). — The extraction of a parathyroid hormone which will prevent or control parathyroid tetany and which regulates the level of blood calcium. *Journ. of biol. Chem.*, 1925, 63, 395-438.
- The production of some of the phenomena peculiar to parathyroid overdosage in dogs by means of certain inorganic salts. *Amer. Journ. of Physiol.*, 1926, 76, 472-482.
- COLLIP (J. B.), CLARK (E. P.) and SCOTT (J. W.). — The effect of a parathyroid extract on normal animals. *Journ. of biol. Chem.*, 1925, 63, 439-460.
- COMPÈRE (E. L.). — The role of the parathyroid glands in diseases associated with demineralisation of the human skeleton. *The Journ. of Bone and Joint. surg.*, 1933, 15, 142-153.
- CORRELL (J. T.) and HUGHES (J. S.). — The relation of filtrable to non filtrable calcium in chicken blood. *Journ. of biol. Chem.*, 1933, 103, 511-515.

- CRETIN (A.). — Etude sur la calcification normale. Le métabolisme du calcium. Les phénomènes minéraux de la réparation des os fracturés. *Gaz. des Hôp.*, 1924, 57, 946-950.
- DELMAS-MARSALET (P.). — Maladies osseuses et troubles du métabolisme calcique. *Presse, Méd.*, 1932, 48, 282-287.
- DHERÉ (Ch.). — Recherches spectrographiques sur l'absorption des rayons ultra-violetes par les albuminoïdes, les protéines et leurs dérivés. *Th. Sciences*, Paris, 1909.
- DILLMAN (M.) et VISSHER (M. B.). — The calcium content of ultra-filtrates of plasma and the influence of changes in hydrogen and bicarbonate Ion, upon it. *Journ. of biol. Chem.*, 1933, 103, 790-799.
- DUPRÉ (E. F.) and SEMEONOFF (E.). — Two factors influencing the serum calcium and inorganic phosphate of the rabbit. I. The influence of diet. — II. The diurnal variation. *Journ. of biol. Chem.*, 1931-32, 94, 341-253.
- ELVEHJEM (A.) and KLINE (B. E.). — Calcium and phosphorus studies in the chick. *Journ. of biol. Chem.*, 1933, 103, 733-734.
- FERRAND (J.). — Contribution à l'étude des substances collagènes. *Th. Pharm.*, 96 p., Lyon, 1933. Bosc et Riou, édit.
- FRANCO (L.). — Les parathyroïdes. *Th.* Paris, 1934, 226 p.
- FREUNDENBERG (E.) und GRÖRGY (P.). — Kalkbindung durch tierische gewebe. 1921, 121, IV, 131-142 ; 1921, 121, V, 142-150 ; 1921, 123, Berichtigung, 304 ; 1921, 124, VI, 299-310 ; 1922, 129, VIII, 138-143 ; 1923, 142, IX, 407-416 ; 1924, 147, X, 191-192.
- GERSCHMANN (R.). — Parathyroïdes et courbe hypercalcémique. *C. R. Soc. biol.*, 1930, 104, 413-414.
- Calcium et phosphore du plasma sanguin des chiens hypophysoprives. *C. R. Soc. biol.*, 1931, 108, 494-495.
- GLAESSNER (K.) et HASS (J.). — Moyen d'activer les formations du calcium dans les fractures osseuses. *Presse Méd.*, 1929, 41, 176-178.

- GILLIGAN (D. R.), VOLK (M. C.) and ALTSCHULE (M. D.). — The diffusibility of plasma calcium following parathormone administration. *Journ. of biol. Chem.*, 1933, 103, 745-757.
- GOLDBLATT (H.). — Der neuere Richtung des experimentellen Rachitisforschung, 1933 (nicht im Handel), 492 p.
- GOODWIN (H. W.) and ROBISON (R.). — The possible significance of hexose-phosphoric esters of the Blood. *Biochem. Journ.*, 1924, 18, 1161-1162.
- GORDON (M. B.) and LIEBERMAN (H.). — Idiosyncrasy to viosterol. *Amer. Journ. med. Sciences*, 1932, 183, 784-795.
- GREENBERG (D. M.) and GREENBERG (L. D.). — Is There an unknown compound of the nature of calcium citrate present in the blood. *Journ. of biol. Chem.*, 1932-33, 99, 1-16.
- GREENWALD (J. B.) and GROSS (J.). — The effect of the administration of a potent parathyroid extract upon the excretion of nitrogen, phosphorus calcium and with some remarks on the solubility of calcium phosphate in serum and on the pathogenesis of tetany. *Journ. of biol. Chem.*, 1925, 67, 217-227.
- GREENWALD (J. B.) and GROSS (J.). — The effect of long continued administration of Parathyroid extract upon the excretion of phosphorus and calcium. *Journ. of biol. Chem.*, 1926, 68, 325-333.
- GRÉGOIRE (R.), LYONNET et DELAVENNE. — De l'influence de la parathyroïdectomie sur la calcémie. Recherches expérimentales. *Presse Méd.*, 1934, 16, 41.
- GUEST (G. M.) and WARBURG (J.). — Effect of overdosage of irradiated ergosterol in rabbits changes in the distribution of phosphorus in blood cells. *Journ. of biol. Chem.*, 1932-33, 99, 445-455.
- GUILLAUMIN (Ch. O.). — Calcium et calcémie chez l'homme. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1932, 14, 85-184.
- HAMMAR (J. A.). — Le thymus humain à l'état normal et pathologique. *Akademische Verlagsgesellschaft*, Leipzig, M. B. H. 1929.

- HASTINGS (A. B.), MURRAY (C. D.) and SENDROY (J.). — Studies of solubility of calcium salts. I. The solubility of calcium carbonate in salt solutions and biological fluids. *Journ. of biol. Chem.*, 1926-27, 71, 723-781.
- HENRY (M.). — Contribution à l'étude de la parathyroïdectomie dans le traitement de la polyarthrite ankylosante et des rhumatismes chroniques. *Th.* Lyon, 1934, 241 p., Bosc et Riou.
- HESS (A. F.), BERLINER (F. S.) and WEINSTOCK (M.). — On investigation of the comparative ash content of metaphysis and shafts of bones. *Journ. of biol. Chem.*, 1931-32, 94, 9-19.
- HESS (A. F.), BENJAMIN (H. R.) and GROSS (J.). — The source of excess calcium in hypercalcemia induced by irradiated ergosterol, 1931-32, 94, 1-8.
- HESS (A. F.) and LEWIS (J. M.). — Clinical experience with irradiated ergosterol. *Journ. of Amer. Assoc.*, 1928, 94, 783-788.
- HOLT (L. E.). — Studies in calcification. III. A quantitative study of the equilibria concerned with the calcification of bones. *Journ. of biol. Chem.*, 1925, 64, 579-587.
- HOLT (L. E.), LA MER (V. K.) and CHOWN (H. B.). — Studies of calcification. I. The solubility product of secondary and tertiary calcium phosphate under various conditions. *Journ. of biol. Chem.*, 1925, 64, 509-564.
- II. Delayed equilibrium between the calcium phosphates and its biological significance. *Journ. of biol. Chem.*, 1925, 64, 567-578.
- HOWLAND (J.), MARRIOTT (W. M.) and KRAMMER (B.). — Studies upon inorganic composition of bones. *Journ. of biol. Chem.*, 1926, 68, 721-735.
- HUGOUNENQ (L.). — Précis de Chimie physiologique et pathologique, 4^e éd., collection Testut, chez Doin.
- Sur la fixation des bases alcalines dans le squelette minéral du fœtus pendant les cinq derniers mois de la grossesse. *C. R. Ac. Sciences*, 1900, 130, 941.

- La statistique minérale du fœtus pendant les cinq derniers mois de la grossesse. *Journ. de Phys. et Path. gén.*, 1900, 2, 1 et 250.
- JAFFÉ (H. L.) and BODANSKY (A.). — Experimental fibrous osteodystrophy (ostitis fibrosa) in hyperparathyroid dogs. *The Journ. of Exper. Med.*, 1930, 52, 669-699.
- JAFFÉ (H. L.). — The resorption of bones. *Arch. of Surg.*, 1930, 20, 335-385.
- JENNER (H. D.) and KAY (H.). — Plasma phosphatase. A clinical method for the determination of plasma phosphatase. *British Journ. experim. path.*, 1932, 13, 22-27.
- JOHNSON (J. L.) and WILDER (R. M.). — Experimental chronic hyperparathyroidism metabolism studies in man. *Transactions of the Assoc. of Amer. physicians*, 1931, 46, 162-171.
- JOHNSON (J. L.). — Experimental chronic hyperparathyroidism. Effects of administration of irradiated ergosterol. *Amer. Journ. of med. Sc.*, 1932, 183, 776-783.
- JONES (J. H.), RAPOPORT (M.) and HODES (H. C.). — The source of excess calcium in hypercalcemia induced by irradiated ergosterol. *Journ. of biol. Chem.*, 1930, 89, 647-656.
- The effects of irradiated ergosterol on thyroparathyroidectomized dogs. *Journ. of biol. Chem.*, 1930, 86, 267-283.
- The effects of irradiated ergosterol on the absorption of calcium from the gastro-intestinal tract. *Proc. Phys. soc. Philadelphia. Amer. Journ. of med. Sc.*, 1930, 179, 729-750.
- JUNG (A.). — La chirurgie des parathyroïdes. *Cong. de Chir.*, 1933. 2^e rapport : l'hyperparathyroïdisme, 147-255.
- KAY (H. D.). — Kidney phosphatase. *Biochem. Journ.*, 1926, 20, 791-810.
- Plasma phosphatase in osteitis deformans and in other diseases of bones. *Brit. Journ. of Exp. path.*, 1929, 10, 253-256.

- The function of a phosphatase in bone formation. *Brit. Journ. of Exp. path.*, 1926, 7, 117-180.
- Plasma phosphatase. Method of determination. Some properties of the enzyme. *Journ. of biol. Chem.*, 1930, 89, 235-247.
- KAY (H.) and ROBISON (R.). — The action of the bone enzyme on the organic phosphorus compound in blood. *Biochem. Journ.*, 1924, 18, 755-764.
- KLETZIEN (S. W. F.), TEMPLIN (V. M.), STEENBOCK (H.) and THOMAS (B. H.). — Vitamine D and the conservation of calcium in the adult. *Journ. of biol. Chem.*, 1932-33, 99, 265-281.
- KLINKE (K.). — Neue bertragezur frage des calciumzustandes in den korperflüssigkeiten. *Biochem. Zeit.*, 1929, 213, 117-123.
- KING LI PEN, WO PING SOUNG et SHI YUAN PO. — La teneur en phosphore et en calcium du sang suivant l'alimentation dans le nord de la Chine. *C. R. Soc. biol.*, 1932, C. 9, 1375.
- KUTHY (VON A.) und BANGA (H.). — Die hydrotrope Lösung des Ca mit bezög auf die Lösung des Ca im Blutserum. *Biochem. Zeit.*, 1931, 230, 458-461.
- KRAMER (B.) and HOWLAND (J.). — The inorganic composition of Bone. *Journ. of biol. Chem.* (d'après *Soc. of biol. Chem.*), 1927, 64, IX.
- The quantitative estimation of calcium magnesium and carbonate in bone. *Journ. of biol. Chem.*, 1926, 68, 711-720.
- LABBÉ (M.) et FABRYKANT (H.). — Le phosphore sanguin dans la pathologie. *Bull. et Mém. de la Soc. Méd. des Hôp. de Paris*, 1932, 20, 157-173.
- LABBÉ (M.), FABRYKANT (M.) et ZAMFIR (C.). — Le phosphore sanguin dans quelques affections du foie. *Arch. des Mal. de l'appareil digestif*, 1932, 22, n° 2, 121-126.
- LANGERON (L.), PAGET (M.) et CORDONIER (V.). — Les bilans calciques. Questions médicales d'actualité. 1933, nos 7 et 8 (Doin et Cie).

- LAPORTE (H.). — Rhumatisme chronique et parathyroïdes. *Journ. Méd. Français*, 1933, 21, n° 1, 37-40.
- LERICHE (R.), JUNG (A.) et SUREYYA CEMIL. — Recherches sur l'action de l'extrait parathyroïdien sur le squelette. *Presse Méd.*, 1933, 401, 2059-2061.
- LERICHE (R.) et POLICARD (A.). — Position actuelle du problème de l'ostéogénèse. (A propos de critiques récentes). *Presse Méd.*, 1934, 9, 169-172.
- Les problèmes de la physiologie normale et pathologique de l'os. Masson, 1926, 1 vol.
- LEVADITI (C.) et LI YUAN PO. — Etudes expérimentales de l'ergostérol irradié. *Presse Méd.*, 1930, 41, 168-172.
- LIÈVRE (J. A.). — L'ostéose parathyroïdienne et les ostéopathies chroniques. 1932, Masson, 380 p.
- LINDBERG (W.). — Über den Einfluss der Thymectomie auf den Gesamtorganismus und auf die Drüsen mit innerer Sekretion, ins besondere die Epiphyse und Hypophyse. *Th. Dorpat*, 1924. *Folia neuropathologica Estuonia Farter.*)
- LOEB (R. F.). — The effect of pure protein solution and of blood serum on the diffusibility of calcium. *Journ. Gen. Phys.*, 1926, 8, 451-458.
- On the diffusibility of the calcium of blood serum through collodion membranes. The effects of sodium chloride and changes in hydrogen ion concentration. *Journ. Gen. Phys.*, 1924, 6, 453-462.
- Les Protéines. 1924, F. Alcan, Paris, 1 vol.
- LOISELEUR (J.) et URBAIN (A.). — Sur les propriétés antigéniques du collagène et leurs modifications sous l'action de l'émanation du radium. *C. R. Soc. biol.*, 1929, 3, 776-781.
- LUCIEN (M.). — Dégénérescence d'éléments épithéliaux. *C. R. Soc. biol.*, 1930, 4, 1284-1287.
- Metamorphie collagène de la fibre musculaire striée. *C. R. Soc. biol.*, 1933, 112, 1081-1083.
- MANOUSSAKIS (E.). — Contribution à l'étude expérimentale des échanges calciques. *Th. Lyon*, 1923, 135 p.

- MARTLAND (M.), HANSMAN (F. S.) and ROBISON (R.). — The phosphoric esterase in blood. *Biochem. Journ.*, 1924, 18, 1152-1160.
- MARTLAND (M.) and ROBISON (R.). — The preparation and use of the bone phosphatase. *Biochem. Journ.*, 1929, 23, 237-240.
- The preparation and use of the bone phosphatase. *Biochem. Journ.*, 1929, 23, 237-240.
- The enzyme in the early stages of development. *Biochem. Journ.*, 1924, 18, 1354-1357.
- MAY (E.). — Le syndrome d'hyperfonctionnement des parathyroïdes. *Rev. crit. de Path. et de Thérapeut.*, 1930, 4, 177-188.
- MOURIQUAND (G.). — Dystrophies calciques. *Lyon Méd.*, 1925, 86, 123-131.
- MOURIQUAND (G.) et LEULIER (A.). — Le métabolisme et les fixateurs du calcium chez l'enfant. *Rapport au XXI^e Cong. Franç. de Méd.*, Liège, 1930.
- MOURIQUAND (G.), LEULIER (A.) et MICHEL (P.). — Dosage du phosphore et du calcium du tissu osseux et des dents des animaux soumis à l'avitaminose C. *C. R. Soc. biol.*, 1925, 92, 269-271.
- MOURIQUAND (G.), LEULIER (A.), BERNHEIM (M.) et WEILL (L.). — Recherches sur les antifixateurs de calcium. *Presse Méd.*, 1931, 107, 769-772.
- MOUZON (J.). — De quelques travaux récents concernant les précautions nécessaires dans la posologie de l'ergostérine irradiée. *Presse Méd.*, 1928, 97, 1546-1549.
- MILES et FENG (J.). — Calcium and phosphorus metabolism in osteomalacia. *Journ. of exp. Med.*, 1925, 41, 137-157.
- MOREL (L.). — Les parathyroïdes. Librairie Scientifique, Paris, 1912, 1 vol.
- MORGAN (F. A.), KIMMEL (L.), THOMAS (R.) and SAMISCH (Z.). — The effect of moderate doses of viosterol and of parathyroid extrad upon bone composition. *Soc. of biol. chem. In Journ. of biol. Chem.*, 1933, 100, 71.

- NAGEOTTE (J.). — Métamorphisme. *C. R. Soc. biol.*, 1933, **112**, 1279-1282.
- Sur la solubilité du collagène dans les acides dilués. *C. R. Soc. biol.*, 1930, **104**, 156-160.
 - Sur le caillot artificiel du collagène. Signification, morphologie, technique. *C. R. Soc. biol.*, 1927, **96**, 172-174.
 - Action des sels neutres sur la formation du caillot artificiel de collagène. *C. R. Soc. biol.*, 1927, **96**, 828-830.
 - Caillot et-gelée de collagène. *C. R. Soc. biol.*, 1928, **98**, 15-16.
 - Sur la solubilité du collagène dans les acides dilués. *C. R. Soc. biol.*, 1928, **98**, 15-16.
 - Collagène A et collagène B. *C. R. Soc. biol.*, 1930, **104**, 156-159.
 - Fibrilles collagènes anatomiques et fibrilles collagènes artificielles. *C. R. Soc. biol.*, 1933, **113**, 841-844.
- NAGEOTTE (J.) et GUYON (L.). — Variations du collagène dissous. *C. R. Soc. biol.*, 1933, **113**, 1399-1401.
- Fibres élastiques, acides et sels neutres. *C. R. Soc. biol.*, 1933, **113**, 1401-1405.
- PAGE (I. A.) und RESIDE (D. M.). — Die wirknig von parathyroid extract auf die phosphatase des blutes. *Biochem. Zeit.*, 1930, **226**, 272-275.
- PARHON (I.) et DERIVICI (M.). — Sur le calcium et le phosphore des os chez les chiens hyperthyroïdiens, hyperparathyroïdisés ou soumis à ces deux traitements combinés. *C. R. Soc. biol.*, 1932, **59**, 1396-1398.
- PETERS (J. P.) and EISENBERG (L.). — The influence of protein and inorganic phosphorus on serum calcium. *Journ. of biol. Chem.*, 1928, **84**, 155-156.
- PETERS (J. P.) and SLYKE (Van D. D.). — Quantitative clinical chemistry. Tome I, Baillière-Tindall and Co, 1931.
- Calcium, 804-845.
 - Phosphorus, 1090-1136.

- PRENANT (M.). — Les formes minéralogiques du calcium chez les êtres vivants. *Biol. Rev.*, 1926-27, 2, 365-393.
- PROCTER (H. R.). — First report on colloidal chemistry. *British. Assoc. for the adv. of Science*, 1927, 7, (tout le n° spéc.).
- PLIMMER (R.). — Chemical constitution of the proteins. 1912, 2^e éd., 2^e partie, p. 11.
- PUGSLEY (L. I.) and SELYE (H.). — The role of parathyroid hormone in the rat. *Soc. of biol. chemists, in Journ. of biol. Chem.*, 1933, 400, 81.
- ROBISON (R.). — The possible significance of hexose phosphoric esters in ossification. *Biochem. Journ.*, 1923, 11, 286-293.
- ROBISON (R.) and SOAMES (K. M.). — The phosphoric esterase of ossifying cartilage. *Biochem. Journ.*, 1924, 18, 740-754.
- A reply to Schypley Kramer and Howland. *Biochem. Journ.*, 1926, 18, 388-391.
- ROGER (H.) et BINET (L.). — Traité de physiologie normale et pathologique. 1, 2, 4, Masson éd., Paris, 193.
- RAVINA (A.) et LYON (S.). — Hyperparathyroïdisme et ostéite fibro-kystique généralisée. *Presse Méd.*, 1934, 50, 1022-1024.
- ROSSI (C.). — Ricerche sperimentale sulla chirurgia della parathyroidi. *Arch. Ital. di Chir.*, 1934, 38, 251-272.
- SAINTON (P.) et MILLOT (J. L.). — Les lésions osseuses et parathyroïdiennes de la maladie de Recklinghausen. Les lésions osseuses de la maladie de Paget. *Journ. Méd. Français*, 1932, 21, 13-18.
- SENDROY (S.) and HASTINGS (A. B.). — Studies of solubility of calcium salts. *Journ. of biol. Chem.*, 1926-27, 71, 783-796.
- Studies of solubility of calcium salts. III. The solubility of calcium carbonate and tertiary calcium phosphate under various conditions. *Journ. of biol. Chem.*, 1926-27, 71, 797-846.
- SHEAR (M. J.) and KRAMER (B.). — Composition of bone. I. Analytical micromethode. *Journ. of biol. Chem.*, 1928, 79, 105-120.

- Composition of bone. IX. Equilibration of serum with dicalcium phosphate. *Journ. of biol. Chem.*, 1930, 86, 677-694.
- SCHOEN (Mlle J.). — Les fixateurs du calcium chez l'enfant. Etude clinique expérimentale. *Th.* Lyon, 1927,
- SCHULTZER (P.). — Le calcium et le phosphore minéral du sérum des rats rachitiques sous l'influence des différents traitements. *C. R. Soc. biol.*, 1925, 48, 1008-1010.
- Le métabolisme du P et du Ca chez les jeunes rats soumis au régime rachitique riche sous l'influence des rayons ultra-violetés de l'huile de foie de morue et des phosphates. *C. R. Soc. biol.*, 1925, 48, 1005-1008.
- SHELLING (D. H.), KRAMER (B.) and DRENT (E. R.). — Studies upon calcification in vitro. III. Inorganic factors determining calcification. *Journ. of biol. Chem.*, 1928, 77, 157.
- SHELLING (D. H.). — Calcium and phosphorus studies. *Journ. of biol. Chem.*, 1932, 92.
- I. The effect of calcium and phosphorus of the diet on tetany serum calcium and food intake of parathyroidectomized rats, 195-214.
- II. The effect of diet and of viosterol on the tetany and on the serum calcium of parathyroidectomized rats, 215-228.
- III. The source of excess serum calcium in viosterol hypercalcemia, 229-243.
- SHELLING (D. H.), ASHER (D. E.) and JACKSON (D. A.). — Calcium and phosphorus studies. The effects of variations in dosage of parathormone and of calcium and of phosphorus, in the diet on the concentrations of calcium and inorganic phosphorus in the serum and on the histology and chemical composition of bones of rats. *Bull. of the Johns. Hopkins. Hosp.*, 1933, 53, n° 6, 348-388.
- SHIPLEY (P. G.), KRAMER (B.) and HOWLAND (J.). — Studies upon calcification in vitro. *Biochem. Journ.*, 1924, 48, 379-387.
- SIMMONET (H.). — L'hormone parathyroïdienne. *Journ. méd. Français*, 1932, 24, n° 1, 40-44.

- SNAPPER (J.). — Maladies osseuses et parathyroïdes. *Endocrinologie*, 1931, 29, 201-221.
- Maladies osseuses et parathyroïdes. *Ann. Méd.*, 1931, 24, 201-222.
- SNAPPER (I) and PARISEL (Ch.). — Xanthomatosis generalisata ossium. *Quarterly Journ. of méd.*, 1933, 2, 407-417.
- SOEM (P.). — Etude expérimentale de l'os dans l'intoxication par l'ergostérol irradié. *Presse Méd.*, 1931, 1003-1005.
- STEENBOCK (H.), KLETZEIN (S. W. E.) and HALPIN (J. C.). — The reaction of the chicken to irradiated ergosterol and irradiated yeast as contrasted with natural vitamine D and fish liver oils. *Journ. of biol. Chem.*, 1932-33, 99, 249-265.
- STEWART (C. P.) and PERCIVAL (G. H.). — Calcium metabolism. *Physiol. Rev.*, 1928, 8, 283-312.
- Studies on calcium metabolism. I. The action of the parathyroid hormon on the calcium content of serum and on the absorption and excretion of calcium. *Biochem. Journ.*, 1927, 11, 301.
- TEMPLIN (V. M.) and STEENBOCK (H.). — Vitamin D and the conservation of calcium in the adult. III. The effect of vitamin D on calcium conservation in adults rats maintained on low calcemie diet. *Journ. of biol. Chem.*, 1933, 100, 209-216.
- III. The effect of vitamin D on the teeths of rats. *Journ. of biol. Chem.*, 1933, 100, 217-225.
- THOMSON (D. L.) and PUGSLEY (L. I.). — The mecanism of parathyroid hormone action. *Soc. of biol. Chemisch. in Journ. of biol. Chem.*, 1932-33, 97, 33-99.
- TWEEDY (W. P.) and TORIGOE (M.). — Chemical studies on a parathyroid hormone. *Journ. of biol. Chem.*, 1932-33, 99, 154-164.
- VERGER (H.), DELMAS-MARSALET (P.) et BROUSTET (P.). — Ostéofibrose kystique de Recklinghausen et carence calcique. Thérapeutique par l'ergostérine irradiée et le gluconate de calcium *Journ. méd. de Bordeaux et du Sud-Ouest*, 1929, 106, 673-677.

WELTI (H.). — La chirurgie des parathyroïdes. Anatomie chirurgicale des parathyroïdes. Signification de la calcémie. Le syndrome d'hypoparathyroïdisme. *Cong. Chir.*, 1933, 1^{er} rapport, pp. 33-190, Alcan, édit.

WEILL (E.). — Fonctions du thymus. *Cong. de l'Assoc. Franç. de Pédiatrie*, 1910, 30 p. (Steinheil, éd.).

WEILL (M. P.) et GUILLAUMIN (Ch. O.). — Le métabolisme du calcium. *Cong. Franç. de Méd.*, 1930, 2^e rap., 1, 93-158.

WEILL (J.). — La teneur du sérum normal en calcium total et en calcium ultrafiltrable. *C. R. Soc. biol.*, 1932, 9, 925-927.

— Calcium total et calcium ultrafiltrable du sérum en pathologie. *C. R. Soc. biol.*, 1932, 9, 927-928.

— La teneur du sérum normal en calcium total et en calcium ultrafiltrable. *C. R. Soc. biol.*, 1932, 9, 925-926.

Table des Matières

ATANT-PROPOS	9
INTRODUCTION	15
CHAPITRE PREMIER : <i>La calcification</i>	21
Etude de la composition chimique de l'os	25
Modifications de la composition chimique avec le vieillissement	53
Les facteurs de la calcification	54
CHAPITRE II : <i>La calcémie</i>	77
Les différentes formes du calcium sérique....	80
Les facteurs de solubilisation du calcium dans le sérum	87
Les facteurs de la calcémie normale	88
CHAPITRE III : <i>Les régulateurs de la calcification et de la calcémie normale</i>	99
Les hormones	102
Les vitamines	143
Le système nerveux	156

CHAPITRE IV : <i>Calcification et calcémie</i>	161
CHAPITRE V : <i>Dystrophies osseuses calciques</i>	173
Généralités	173
Les facteurs biochimiques qui constituent un un élément séméiologique	175
Observations	186
CHAPITRE VI : <i>Techniques</i>	209
CONCLUSIONS	211
BIBLIOGRAPHIE	219

